

Aus dem Institut für Pharmakognosie und Phytochemie
der Freien Universität Berlin

INHALTSSTOFFE
AUS
LYCIUM CHINENSE MILLER

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jai-Tung Huang
Nantou, Taiwan (Formosa)

1976

Aus dem Institut für Pharmakognosie und Phytochemie
der Freien Universität Berlin

**INHALTSSTOFFE
AUS
LYCIUM CHINENSE MILLER**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jai-Tung Huang
Nantou, Taiwan (Formosa)

Referent: Prof. Dr. Rudolf Hänsel

Korreferent: Prof. Dr. A. Kreutzberger



Gedruckt mit Genehmigung des FB 22, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

Promoviert am : 12. April 1976

Meinen lieben Eltern und
meiner Frau in Dankbarkeit
gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548818_0017

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung und Problemstellung	1
1.1. Einordnung der Gattung Lycium	1
1.2. Zur Pharmakognosie: Anwendung von Lycium- Arten in der Volksmedizin	3
1.3. Lycium chinense	
1.3.1. Anwendung in der Volksmedizin	7
1.3.2. Übersicht über bisherige phytochemische Untersuchungen	10
1.4. Problemstellung	14
2. Praktischer Teil	16
2.1. Allgemeine Angaben	16
2.2. Herkunft der Droge und Identifizierung der untersuchten Droge	19
2.3. Chemische Fraktionierung: Herstellung der Toluolfraktion T und Äthylacetatfraktion ÄAc	22
2.4. Auftrennung der Toluolfraktion T	24
2.4.1. Säulenchromatographische Auftrennung in Fraktionen T-1 bis T-8	24

	Seite
2.4.2. Analytische DC der Fraktion T-1 bis T-8	26
2.4.3. Präparative DC der Fraktionen T-5 und T-8	27
2.5. Auftrennung der Äthylacetatfraktion ÄAc	29
2.5.1. Säulenchromatographische Auftrennung in Fraktionen ÄAc-1 bis ÄAc-13	29
2.5.2. Analytische DC der Fraktionen ÄAc-1 bis ÄAc-13	31
2.5.3. Präparative DC der Fraktionen ÄAc-4 und ÄAc-5	32
2.6. Charakterisierung und Identifizierung der aus der Fraktion T gewonnenen Reinsubstanzen	34
2.6.1. Kristallisate aus den Fraktionen T-1 und T-2	34
2.6.2. Lyciumsubstanz A: Identifizierung als 5,20 α -Dihydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-witha- 2,24-dienolid	37
2.6.3. Lyciumsubstanz B: Konstitutionsaufklärung eines neuen Withanolids	43
2.7. Charakterisierung und Identifizierung der aus der Äthylacetatfraktion ÄAc gewonnenen Reinsubstanzen	51
2.7.1. Kristallinat aus ÄAc-4: Scopoletin	51
2.7.2. Kristallinat aus ÄAc-5: Vanillinsäure	56
2.7.3. Kristallinat aus ÄAc-13: Bernsteinsäure	60

2.8. Halbquantitative Bestimmung der Haupt-Withanolide (Lyciumsubstanzen A und B)	63
3. Theoretischer Teil	67
3.1. Chemie und Biochemie der Withanolide	67
3.1.1. Allgemeines	67
3.1.2. Methoden der Konstitutionsaufklärung	72
3.1.2.1. Abbaumethoden	72
3.1.2.2. Chemisch-physikalische Methoden	74
3.1.2.2.1. Circular dichroismus	74
3.1.2.2.2. UV-Spektroskopie	82
3.1.2.2.3. IR-Spektroskopie	87
3.1.2.2.4. NMR-Spektroskopie	91
3.1.2.2.5. MS-Spektroskopie	98
3.1.3. Pharmakologische Eigenschaften	104
4. Zusammenfassung der Ergebnisse	105
5. Literatur	108
6. Lebenslauf	114

1. Einleitung und Problemstellung

1.1. Einordnung der Gattung Lycium

Nach ENGLER's Syllabus (1964) bildet die Gattung Lycium eine von 85 Gattungen der Familie der Solanaceae (siehe Abbildung 1). Nach WETTSTEIN (1935) unterteilt man die Familie weiter in die fünf Triben der Nicandreae, der Solaneae, der Datureae, der Cestreae und der Salpiglossideae, je nachdem, ob der Embryo im Samen gekrümmt oder gerade ist, und je nach Fruchtform. Die Gattung Lycium gehört zur Tribus der Solaneae, einer Tribus, die wertvolle Arznei- und Nutzpflanzen umfaßt wie beispielsweise Atropa belladonna, Hyoscyamus niger, Capsicum annuum, Solanum-Arten (S. dulcamara = Bittersüß, S. tuberosum = Kartoffel, S. melongena = Aubergine, S. lycopersicom = Tomate), Physalis alkekengi und Mandragora officinarum. Chemotaxonomisch gesehen ist die Tribus der Solaneae offensichtlich sehr uneinheitlich. Betrachten wir die Alkaloidführung, so finden wir die Solanazeen-Alkaloide in den Arten: Atropa, Scopolia, Hyoscyamus und Mandragora. Withanolide hingegen wurden gefunden in Arten der Gattung Acnistus, Withania und Jaborosa.

Zur Chemotaxonomie der Gattung Lycium liegen keine Arbeiten vor.

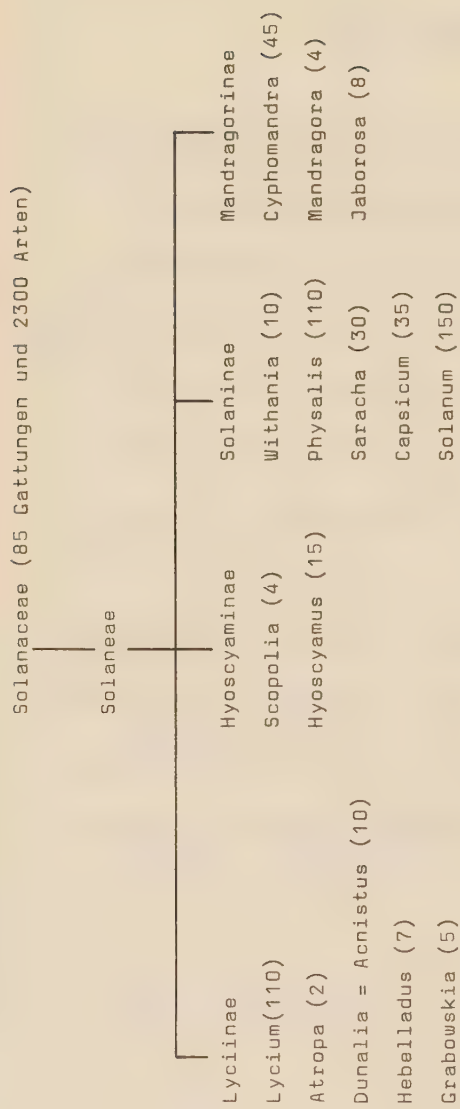


Abbildung 1 : Stellung der Gattung Lycium innerhalb der Solanaceae nach
 ENGLER (Syllabus 1964), ergänzt durch ENGLER-PRANTL (1895).
 Nicht alle Gattungen aufgeführt.

1.2. Zur Pharmakognosie: Anwendung von Lycium-Arten in der Volksmedizin

Von Lycium-Arten gibt R. HEGNAUER (1973) an, daß "viele lokal als Arzneipflanzen geschätzt werden". Bei näherer Durchsicht der Literatur zeigt sich deutlich, daß nur über wenige der etwa 100 Arten brauchbare Angaben über die Verwendung vorliegen, und zwar hauptsächlich über *L. halimifolium* und *L. chinense*.

Bezüglich der Benennung von *Lycium halimifolium* Mill. herrscht in der Literatur große Unsicherheit. Nach HEGI (1958) handelt es sich bei der in Mitteleuropa gelegentlich als Heckenpflanze gezogenen und hier und da verwildert vorkommenden Art um *L. halimifolium* Miller. Dieser Nomenklatur schließt sich auch W. RAUH (1955) an. Nach einer Zusammenstellung bei HEGI [(1958, siehe auch W. MERZ und H. STOLTE (1960)] ist *L. halimifolium* synonym mit *L. vulgare* Dunal sowie mit *L. barbarum* Auct. ph. on L.s.str. und *L. turbinatum* Poir. Der "gemeine Bocksdoorn" oder "Teufelszwirn" stellt einen bis 2 m hohen Strauch dar, besitzt "grau-gestreifte, aufrechte oder bogig überhängende Schößlinge, deren Kurztriebe zu einer Dornenspitze auslaufen. Die lanzettlichen, dünnen Blätter werden bis zu 8 cm lang und sind unterseits graugrün. Die Blätter stehen einzeln, selten zu zweit oder mehreren (bis vier) in den Blattachseln, besitzen einen 5-spaltigen Kelch und eine röhrenförmige, glockige,

hellviolette, dunkel geaderte Blumenkrone. Die Früchte sind orange- oder korallenrot gefärbte, länglich-eiförmige, 8 - 15 mm lange Beeren" (nach W. RAUH, 1955). Nach UPHOF (1968) verwendet man das "Kraut" (= *Herba Lycii*) als Purgativum und Diureticum, sodann in der Homöopathie - allerdings ohne die Literatur anzugeben, worauf sich diese Angaben stützen. Die beste Zusammenstellung über die therapeutische Verwendung verdanken wir L. LECLERC (1954) und R. WEITZ (1921), zwei französischen Autoren, die ich anschließend referiere. Danach soll bereits in der Antike *Lycium* bei Augenkrankheiten sehr geschätzt worden sein: "*Ad conturbationes et apiphoras oculorum*", wie es bei Scribanius Largus heißt. Die Pflanze findet sich in der *Materia medica* des DIOSCORIDES allerdings unter der Bezeichnung *Rhamnos*: Zur Frage der Identifizierung siehe R.T. GUNTHER (1959). Das *Lykion* des DIOSCORIDES freilich (siehe *Materia medica* I, 132) hat nichts mit unserem *Lycium* zu tun, vielmehr handelt es sich um *Rhamnus infectarium* SIBTH. Die Blätter sind nach DIOSCORIDES nützlich gegen Erysipel und Herpes, "und man sagt, daß die Zweige, legt man sie in Türen oder Fenster, die Verwünschungen von Hexen fernhalten".

Kehren wir zurück zur modernen Literatur über *L. barbarum*. Trotz sorgfältiger Analyse gelang es M.R. WEITZ (1921) nicht, mydriatisch wirkende Alkaloide nachzuweisen, die E. SCHMIDT und W. SCHÜTTE (1890) isoliert

haben wollen. Auch K.W. MERZ und H. STOLTE (1960) stellen erst neuerdings ausdrücklich fest, daß auch papierchromatographisch keine Tropinbasen nachweisbar sind. Vom chemotaxonomischen Standpunkt aus ist zwar das Vorkommen von atropinähnlichen Substanzen plausibel, da *Lycium* mit der Gattung *Atropa* zur selben Subtribus gehört (siehe Abbildung 1), und es ist um so bemerkenswerter, daß tierexperimentelle Wirkungen nachgewiesen wurden, die als ausgesprochen atropinartig zu bezeichnen sind (J. DELPHAUT und J. BALANSARD, 1949). Die gleichen Autoren zeigten in einer späteren Arbeit (1950), daß die "Atropin-Wirkung" an einem stickstofffreien Inhaltsstoff hängt. Die erwähnten Arbeiten sind in sich ziemlich widersprüchlich, und die Droge bedarf dringend einer Neubearbeitung mit modernen Methoden. Daß es sich um keine echten Atropin-Effekte handelt, dafür sprechen klinische Prüfungen von C. LE PAGNOL (zitiert bei LECLERC, 1954), wonach beim Menschen bei oraler Applikation keine mydriatischen Nebenwirkungen beobachtet wurden. Ebenso wenig trat die für Atropin typische Trockenheit in Mund und Rachen auf. Positive klinische Beobachtungen wurden hinsichtlich der Wirksamkeit bei Husten, speziell bei Keuchhusten mit spastischer Komponente, gemacht.

Über die volksmedizinische Verwendung von *L. europaeum* in anderen Kulturkreisen wurden Angaben bei NADKARNI (1954) und bei MANFRED (1958) gefunden. NADKARNI schreibt

kurz und bündig: "this is an aphrodisiac." (loc. cit. Band I, S.756). In Argentinien dient nach MANFRED ein Aufguß der Blätter dazu, bei Nieren- und Blasenentzündungen, den Urin zu vermehren" (loc. cit. S.151).

Eigenartigerweise finden wir in allen Weltteilen immer wiederkehrend volksmedizinische Angaben über die Verwendung von *Lycium*-Arten bei Augenleiden. In Tunesien beispielsweise benutzt man dazu unter dem volkstümlichen Namen Adusedj eine konzentrierte Abkochung der Stengel, der Blüten und Früchte von *L. europaeum* L., die man zu einer Paste verarbeitet und auf die Augenlider und deren Umgebung aufträgt (J. BOUQUET, 1921).

Nach de LANEISSAN (1966) verwendete man im ehemaligen Cochinchina die Beeren von *Lycium cochinchinense* LOUR in Form einer weingeistigen oder wässrigen Abkochung als Tonikum und Analeptikum. In Chile dienen die Blätter von *Lycium afrum* zur Behandlung von Erysipel und Hautflecken, und in Kolumbien verwendet man für den gleichen Zweck *Lycium umbrosum* H.B.K. (= *Ichroma umbrosa* MIERS), im Volke als Upaguando bezeichnet (zitiert bei WEITZ, S.77).

Auf die wenig brauchbaren und hier kaum interessierenden Angaben bei J.M.WATT (1962) sei lediglich hingewiesen.

1.3. Lycium chinense: Anwendung in der Volksmedizin sowie Übersicht über die bisherigen Untersuchungen

1.3.1. Anwendung in der Volksmedizin

Lycium chinense findet sich bereits in dem ältesten Werk der Weltliteratur erwähnt, das sich mit Arzneimitteln befaßt, dem "Schen-Nong-Pen-Tsao" , das auf das Jahr 3215 v.Chr. zurückgeht(zitiert bei WEN-YAH KOOH,1972). Interessanterweise wurde damals bereits eine Therapie betrieben, die wir heute als Hormon- und Vitamin-Therapie deuten können, so die Verwendung der Ansätze junger Hirschgeweihe, von Moschus und von Testikeln der Seehunde[Otaria ursina]; man verwendete diese tierischen Drogen gegen Neurasthenie und Impotenz sowie als Aphrodisiacum. Die in diesem ältesten Werk aufgenommenen tierischen und pflanzlichen Drogen waren in drei Teile gegliedert: "in die Gruppe der "besonders wertvollen Drogen"(bei WEN-YAH KOOH[1972] als "Superdrugs" bezeichnet), in die Gruppe der mittleren Drogen("medium drugs") und die der bösen Drogen("inferior drugs)". In der zuletzt genannten Gruppe sind u.a. alle die Drogen zu finden, die wir heute als toxisch kennen, so Aconitum, Hyoscyamus, Veratrum und Gelsemium. Als besonders wertvoll wurden Drogen angesehen und in die zuerst genannte Gruppe eingeordnet, die nicht giftig sind und der Kräftigung und Stärkung im weitesten Sinne dienten. Wir finden also alle Aphrodisiaca in dieser ersten Gruppe: neben den schon genannten tierischen Drogen finden wir hier Ginseng und

die hier zur Diskussion stehende *Lycium chinense*.

Bevor auf die Angaben hinsichtlich der Anwendung von *Lycium* eingegangen wird, seien zunächst noch weitere Werke der alten chinesischen Medizin angeführt.

Vom Jahre 2697 v.Chr. finden sich Nachrichten, wonach die Verwendung von Gewürzen als Aphrodisiaca verboten wurde. Arsenik wurde gegen Hautkrankheiten und bei Anämien verschrieben. Safran und *Carthamus* (*C. sinctoria*) wurden als Emmenagoga verwendet.

150 pflanzliche und 170 tierische Drogen neben 160 Drogen mineralischen Ursprungs wurden in einem Buch Shan-Hai-Tsching beschrieben, entstanden um 300 v.Chr. in der Tsan-Ko-Periode (Zeit der kämpfenden Länder). Das Werk gilt als verloren. Im Jahre 502 n.Chr. in der Periode der Liang-Dynastie unter dem Kaiser Liang-Wu wurde das "Schen-Nong-Pen-Tsching-Tsu", ein Kommentar zum "Schen-Nong-Pen-Tsoa-Tsching", herausgegeben, dem Umfange nach zweimal so groß wie das Originalwerk. Im Jahre 1108 wurde unter der SUNG-Dynastie das "Ta-Kuan-Pen-Tsoa" konzipiert. Das Werk beschreibt 1778 Arten von Arzneimitteln. Schließlich wurden im Jahre 1574 unter der MING-Dynastie von LI-SE-TSEN in dem Werk "Li-se-Pen-Tsoa" 1871 verschiedene Drogen beschrieben. Es wurde in der Folge ergänzt und in dieser Form als "Pen-Tsoa-Gang-Mu" bekannt. Im botanischen Teil des Werkes sind u.a. heute noch gebräuchliche Drogen wie Ephedra und Rhabarber beschrieben.

Sowohl in dem ältesten Werk der chinesischen Medizin, dem oben erwähnten "Schen-Nong-Pen-Tsoa-Tsching" als auch dem "Pen-Tsoa-Gang-Mu" findet *Lycium chinense* Erwähnung. Das zuerst genannte Werk läßt die Gesamtdroge verwenden, und zwar gegen Fieber, das andere Krankheiten begleitet, gegen Durst bei Hitze, sodann zur Erhöhung der Libido und gegen Ejaculatio praecox, sowie gegen Gelenkschmerzen bei rheumatischen Erkrankungen. Zum Schluß heißt es: "Wer lange Jahre die Droge nimmt, bleibt jung."

In dem rund 4800 Jahre später verfaßten "Pen-Tsoa-Gang-Mu" finden wir im Prinzip noch die gleichen Indikationen, jedoch abweichend gesonderte Indikationen je nach Pflanzenteil. Die Blätter verwendet man gegen körperliche Erschöpfungszustände besonders nach exzessivem Sexualverkehr und bei Kohabitationsschwierigkeiten, gegen "Schmerzen der Haut" (rheumatische Arthritis), gegen Fieber, gegen Durst und Schock bei Hitze; äußerlich benutzte man die Blattdrogen gegen Tumore der Haut und gegen Augeninfektionen, besonders bei Glaukom. Die Wurzeldroge verwendet man sehr ähnlich gegen Potenzstörungen und bei nachlassender sexueller Leistungsfähigkeit, gegen Fieber als Begleitsymptom von Grippe, gegen Durst, bei rheumatischer Arthritis und — abweichend von den Blättern — gegen Bluthusten. Als Verwendung der Früchte finden sich angegeben: "gegen körperliche Erschöpfungszustände und gegen Nachlassen der sexuellen Leistungsfähigkeit, gegen Rheuma und bei Herzerkrankungen, "gegen Herzschmerzen".

Einer der ersten Europäer, der über die chinesische Materia medica schreibt, ist SOUBEIRAN et DABRY THIERSANT (1874), französischer Konsul im damaligen China. Danach sammelte man besonders in den Provinzen Chan-Si und Kiang-Sou die Beeren und verwendete sie als "Antineuralgicum". Die Wurzel, befreit von der Rinde, (La racine, privée de son écorce), verwendet man gleichermaßen unter der Bezeichnung "Ti-ku-pi" *). In Japan betrachtet man die Früchte als genießbar und als "Stärkungsmittel".

1.3.2. Bisherige phytochemische Untersuchungen

Die Stammpflanze *Lycium chinense* liefert drei volksmedizinisch benutzte Drogen: Die Wurzelrinde, die Früchte und die Blätter. Über die Wurzelrinde — auch nicht über die gesamte Radix-Droge — liegen keine phytochemischen Analysen vor. Aus den roten Früchten wurde als Pigment das Zeaxanthin [1] isoliert; sodann wurden weitere, vom therapeutischen Standpunkt aus nicht interessierende Substanzen wie Betain und Aminosäuren isoliert (siehe Tab. 1). Die intensiver untersuchte Blattdroge enthält nach den bisherigen Ergebnissen ebenfalls keine sekundären Pflanzenstoffe (siehe Tabelle 1), von denen eine irgendwie geartete, auffallende pharmakologische Wirkung bekannt wäre.

*) Offensichtlich wird hier falsch zitiert: Man verwendet im Gegenteil unter der o.a. Bezeichnung die Wurzelrinde.

Tabelle 1 : Übersicht über die bisher aus *Lycium chinense* isolierten Inhaltsstoffe.

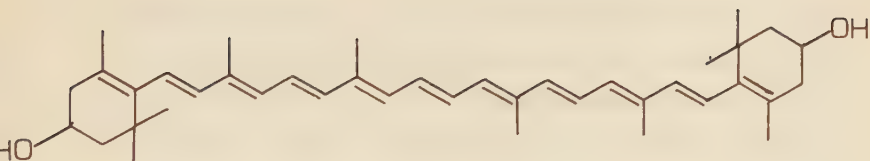
Untersuchter Pflanzenteil	Isolierte Substanzen	Literatur
A. Früchte	Zeaxanthin [<u>1</u>]	GOODWIN, 1952
	Betain	HARASHIMA, 1969
	Leucin	FURUYA, 1911/12
	Valin	NISHIYAMA, 1962
	Prolin	
	Alanin	
	Tyrosin	
	Glutamin	
	Glucin	
	Glutaminsäure	
	Asparaginsäure	
	Histidin	
	Tryptophan	
B. Früchte u. Wurzelrinde	β -Sitosterin [<u>2</u>]	MIZOBUCHI, 1965
	Melissensäure	
	Linolensäure	
C. Blätter	β -Sitosterin- β -D-Glykosid	IMAI, 1963
	Betain	PAECH, 1963
	Rutin [<u>3</u>]	MIZOBUCHI, 1969
	Ascorbinsäure	
	Nucleinsäure-Der.:	YOSHIMURA, 1969
	Inosin	
	Hypoxanthin	
	Cytidylsäure	
	Uridylsäure	
	Fortsetzung	

Fortsetzung der Tabelle

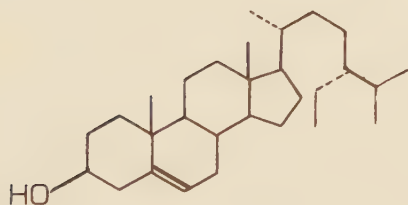
siehe Seite 12

Fortsetzung der Tabelle 1

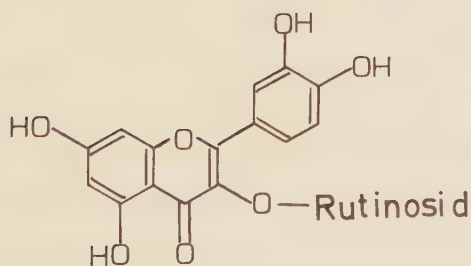
Untersucher Pflanzenteil	Isolierte Substanzen	Literatur
C. Blätter	Organische Säure: Bernsteinsäure Pyroglutaminsäure Oxalsäure Glykolsäure Malonsäure Citronensäure Aminosäure: Glutaminsäure Asparaginsäure Prolin Serin Tyrosin Arginin Leucin Valin Alanin Lysin Glycin	YOSHIMURA, 1969



1



2



3

Da die Chemie keinerlei Anhaltspunkte erbrachte, die sich irgendwie als Begründung der volksmedizinischen Verwendung interpretieren ließen, ist von diesem Blickpunkte aus eine pharmakologische Arbeit von besonderem Interesse. SUZUKI und Mitarbeiter(1972) fanden, daß Blattauszüge der Droge stimulierend auf die Hypophyse wirken und die Ausschüttung von luteotropen Hormonen stimulieren. KURUKAWA (1962) beschrieb, daß Extrakte aus Früchten blutdrucksenkend wirken und die Herztätigkeit herabsetzen. PIN-KING LI(1936) fand die blutzuckersenkende Wirkung der Auszüge aus der Wurzelrinde.

1.4. Problemstellung

Die Literaturübersicht der vorhergehenden Abschnitte zeigte, daß es bisher nicht gelungen ist, aus Lycium-Arten Stoffe mit auffallender Wirkung zu isolieren, noch daß es überhaupt gelungen war, irgendwelche taxoncharakteristische Stoffe nachzuweisen: Sowohl von der Wirkstoffforschung her gesehen als auch vom Blickpunkt der Chemotaxonomie aus kann die Gattung als unerforscht gelten. Ziel der Arbeit war es, die Blattdroge von Lycium chinense so zu fraktionieren, daß möglichst viele Substanzen anfallen. Die kristallisierbaren Stoffe sollten sodann charakterisiert und identifiziert werden. Die Grobfraktionierung erfolgt in der Regel nach der Polarität. Da die stark polare Fraktion bereits früher einmal untersucht

worden war, konzentrierte ich mich im Rahmen der vorliegenden Arbeit auf die mittels Toluol extrahierbaren lipophilen Stoffe und auf die mittels Äthylacetat extrahierbaren Stoffe mittlerer Polarität. Erfahrungsgemäß gelangen Stoffe bis zur Polarität von Monoglykosiden in die zuletzt genannte Fraktion, während Bioside, Trioside, Zucker und Säuren bevorzugt die stark polare Fraktion bilden.

2. Praktischer Teil

2.1. Allgemeine Angaben

2.1.1. Drogenherkunft: Die untersuchte Droge stellt Handelsware dar, die in Nantou, Taiwan auf dem Markt gekauft wurde.

2.1.2. Chromatographie: Zur Dünnschichtchromatographie wurden Platten von 20 x 20 cm Größe verwendet. Für die laufenden Untersuchungen wurden sie mit dem Streichgerät nach STAHL (Fa. Desaga) beschickt; die Schichtdicke des Sorptionsmittels (Kieselgel F Woelm DC) betrug etwa 0,25 mm. Für die in der vorliegenden Arbeit angegebenen R_f -Werte wurden, wegen der besseren Reproduzierbarkeit der Werte, DC-Fertigplatten Kieselgel F₂₅₄ Merck verwendet. Zur Säulenchromatographie wurde Kieselgel Woelm (Korngröße 0,05-0,2 mm) verwendet. Die zur präparativen DC-Trennung benutzten Kieselgelplatten wurden wie folgt bereitet: 75,0g Kieselgel F Woelm DC wurden mit ca. 130 ml Wasser angerührt. Mit der Suspension wurden Platten (jeweils zwei) im Format 20 x 20 cm beschickt und an der Luft getrocknet. Schichtdicke etwa 1 mm. Konzentrationsangaben bei Fließmitteln beziehen sich auf Volumina (v/v). Die entwickelten Chromatogramme wurden unter einer Universal UV-Lampe Typ TL-900 der Firma Camag ausgewertet.

Detektion: Als Sprühmittel wurden eine 1 %ige methanolische FeCl_3 -Lösung und Dragendorffs Reagens verwendet.

2.1.3. Circulardichroismus^{*)}: Die Messung des CD wurde in der Firma Schering AG, Berlin, mit dem Gerät Jonan durchgeführt.

2.1.4. Spektroskopie

UV-Spektroskopie: Die Absorptionsspektren wurden mit einem Zeiss-Spektralphotometer PMQ 2 aufgenommen.

IR-Spektroskopie: Die IR-Spektren wurden mit einem Leitz-Unican-Spektralphotometer SP 200G als KBr-Preßling aufgenommen.

NMR-Spektroskopie:^{*)} Die Kernresonanzspektren wurden mit einem Spektrometer Varian HA-100-D und einem Varian-S-60 aufgenommen. Lösungsmittel: CDCl_3 oder DMSO-d_6 , Tetramethylsilan als innerer Standard. Alle Angaben von ppm sind τ -Werte.

Massen-Spektroskopie^{*)}: Die Massen-Spektren wurden mit den

^{*)} Ich danke Herrn Dr.D.Rosenberg, Forschungslaboratorien der Fa. Schering AG, Berlin, für die Messung von MS, NMR und hochauflösendes MS und Herrn Dr. D.Cleve für die Messung des CD.

Massenspektrographen Varian CH-4 und CH-7 bei 70 eV und variablen Temperaturen aufgenommen, die jeweils angegeben werden. Das hochauflösende Massenspektrum wurde durch Herrn Dr. Rosenberg mit einem MAT-CH-5 (doppel-focusing MS) aufgenommen.

2.1.5. Optische Drehung: Die Messung der optischen Drehung wurde mit dem lichtelektrischen Präzisionspolarimeter 0,005(Zeiss) durchgeführt.

2.1.6. Schmelzpunktbestimmung: Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heiztischmikroskop bestimmt.

2.1.7. Mikroanalysen: Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Labor J.BEETZ, 864 Kronach und im pharmazeutischen Institut der FU-Berlin durchgeführt.

2.2. Herkunft der Droge und Identifizierung^{*)} der untersuchten Droge

Die Blattdroge stellt Handelsware aus den zentralen Gebieten der Insel Taiwan dar, gekauft bei lokalen Händlern von Nantou. Belegexemplare der Pflanze wurden mir überlassen von Herrn IH-SCHENG TSCHEN vom Kaohsiung Medical College (Department of Pharmacy), Kaohsiung, Taiwan, dem ich an dieser Stelle herzlich dafür danke. Die Belegexemplare wurden deponiert im Herbar des Instituts für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin.

Die untersuchte Blattdroge besteht aus dunkelgrünen bis schwarzen 1 bis 3 cm länglichen eingerollten Blättern, durchsetzt mit kleinen Anteilen dünner Stengelteile und von 1 bis 1,5 cm großen Dornen.

Nach der üblichen mikroskopischen Technik wurden Querschnittpräparate und Oberflächenpräparate angefertigt und diese mit Präparaten von authentischen Proben aus dem a) Botanischen Garten und Museum Berlin-Dahlem^{*)} und b) den unter 1. genannten Herbarbögen vom Medical College Kaohsiung, Taiwan, verglichen: Epidermiszellen in der

^{*)} Ich danke Herrn Dr. Hypko, Botanisches Museum Berlin, für die Überlassung der authentischen Probe.

Aufsicht gesehen wellig-buchtig mit feiner (undeutlicher) Kuticularstreifung; auf der Oberseite höchst selten, unterseits reichlich Spaltöffnungen^{*)} in der Regel von drei, seltener von vier Nebenzellen umgeben. Sowohl im Querschnitt als auch im Flächenpräparat sind, ähnlich wie bei den Blättern von *Atropa belladonna*, jedoch viel reichlicher, Kristallsandzellen zu beobachten. Leitbündel sind bicollateral. Ältere Blätter fast unbehaart; jüngere Blätter mit kurzgestielten Drüsenhaaren (Stiel meist zweizellig, Drüsenkopf meist sechszellig). Zum Unterschied von *Atropa belladonna* keine anderen Haarformen. Die untersuchte Handelsware zeigte bei der mikroskopischen Prüfung Übereinstimmung in allen Merkmalen mit den authentischen Vergleichsproben^{**}).

^{*)} Nach R. WEITZ (loc. cit) sollen auf der Oberseite keine Spaltöffnungen zu sehen sein.

^{**}) Ich danke Frau Prof. Dr. L. LANGHAMMER, Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin, für ihre Hilfe bei der mikroskopischen Identifizierung.



Abbildung 1a: Herbarbogen:
Lycium chinense Mill.
aus Taiwan

2.3. Chemische Fraktionierung: Herstellung der Toluolfraktion T und der Äthylacetatfraktion ÄAc

Die lufttrockene Blattdroge wurde in einer Schlagkreuzmühle (Firma Retsch) fein gemahlen. 2,5 kg der so erhaltenen Pulverdroge wurden sodann mit zunächst 12 l eines Gemisches von Methanol-Wasser (80 + 20, v/v) 24 Stunden lang unter gelegentlichem mechanischen Rühren bei 40°C digeriert. Nach Abdekantieren wurde die Extraktion mit je 8 l Lösungsmittelgemisch zweimal wiederholt und schließlich scharf abgepreßt. Die Extrakte wurden vereinigt und auf ein Endvolumen von 3 l im Vakuum-Umlaufverdampfer eingeeengt. Der sich bildende Niederschlag wurde abfiltriert (Fritte, Wasserstrahlpumpe) und das Filtrat portionsweise mit insgesamt 5 l Toluol in einem großen 2 l Scheidetrichter ausgeschüttelt. Die Toluolphasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum zur Trockne eingeeengt. Es resultierte ein grüner schmieriger Rückstand (T). Im Anschluß daran wurde fünfmal mit je 1 l Äthylacetat ausgeschüttelt, die Phasen vereinigt, ebenfalls über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum verjagt. Der Rückstand bildete eine zähe, braune Flüssigkeit (ÄAc).

Der beschriebene Extraktionsgang (siehe Abbildung 2) wurde mit weiteren 2,5 kg der Droge wiederholt. Die aus insgesamt 5,0 kg Droge gewonnenen Extrakte wurden gewogen:

T = 30 g (d.s. 0,6%); ÄAc = 130 g (d.s. 2,6%)

5 kg lufttrockene Blätter
von *Lycium chinense*

wurden mit insgesamt 56 l
80 %igem Methanol (Wasser)
ausgekocht. Einengen auf 6 l,
Klären, Filtrieren

Extrakt-1

in Anteilen von insge-
samt 10 l Äthylacetat
ausschütteln

Äthylacetat-
fraktion

Über Na_2SO_4
trocken, i.V.
einengen

130 g Rückstand-
ÄAc

in Anteilen von insgesamt
10 l Toluol ausschütteln

Toluolfraction

Über Na_2SO_4
trocken, i.V.
einengen

30 g Rückstand-T

Extrakt-2

(nicht weiter aufgearbeitet)

Abbildung 2 : Fraktionierungsgang

2.4. Auftrennung der Toluolfraktion

2.4.1. Säulenchromatographische Auftrennung der Toluolfraktion T

30g des Toluolextraktes T wurden in einem 500 ml Kolben in der nötigen Menge heißen Chloroforms gelöst, und mit 30 g Celitepulver versetzt. In Vakuum (Umlaufverdampfer) wurde das Lösungsmittel verjagt, so daß ein streufähiges Pulver resultierte. 30 g dieses streufähigen Pulvers (entsprechend 15 g T) wurden auf eine Chromatographiesäule ($\varnothing$ 5,8 cm) gebracht, die mit 800 g Kieselgel F Woelm (Korngröße 0,05 - 0,2 mm) beschickt war. Mit dem Fließmittelgemisch Toluol-Äthylacetat steigender Polarität wurde nunmehr chromatographiert (Tropfgeschwindigkeit 25 ml/20 Minuten) und Fraktionen zu 25 ml in einem Fraktionssammler gesammelt. Die Polarität wurde so abgestuft, daß insgesamt acht Fraktionen T-1 bis T-8 resultierten, bei einem Gesamtverbrauch von 18 l Lösungsmittel, davon 8,4 l Toluol und 9,6 l Äthylacetat.

Die Fraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit, die entsprechenden Rückstandsgewichte der 8 Fraktionen finden sich in der Tabelle 2 eingetragen. Die Auftrennung wurde in der gleichen Weise mit den restlichen 30 g des obigen Ansatzes wiederholt.

Tabelle 2 : Analytische DC der Fraktionen T-1 bis T-8

Fraktion	Lösungsm.-Gem. Tol.-ÄAc (v/v)	Rückstand	
		Menge (g)	DC (Rf-Werte)*)
T-1	90+10 (2 1)	4,03	β_1 :0,28-0,7 r. **
T-2	80+20 (2 1)	1,0	α :0,64 gr. β_2 :0,64 r.
T-3	70+30 (2 1)	0,66	α :0,28-0,8 gr. β_2 :0,28-0,8 r.
T-4	60+40 (2 1)	0,37	β_2 :0,82 r. α :0,65 gr. α :0,5 gr.
T-5	50+50 (2 1)	0,12	β_1 :0,5 Fl.lö. γ :0,5 br. β_1 :0,3 Fl.lö. γ :0,36 br.
T-6	40+60 (2 1)	0,18	α :0,65 hg 0,5 " 0,36 "
T-7	30+70 (2 1)	0,06	β_1 :0,36 Fl.lö. γ :0,36 br. β_1 :0,25 Fl.lö.
T-8	30+70 (2 1)	0,27	β_1 :0,2 Fl.lö. γ :0,2 br.

*) DC-Fließmittel: Toluol-Äthylacetat (1:1)

Kieselgel F Woelm DC

**) Zeichenerklärung: 1) α, β, γ siehe Text 2.4.2.

2) Farben: r.(rot), gr.(grün), br.(braun),
hg.(hellgrün), gra.(grau), hbr.(hell-
grau), bl.(blau)
Fl.lö.(Fluoreszenzlöschung), Fl.(Fluores-
zenz).

2.4.2. Analytische DC der Fraktionen T-1 bis T-8

Einige Milligramm der Rückstände T-1 bis T-8 wurden in etwa 5 ml Chloroform gelöst und von der Lösung so viel auf eine DC-Platte aufgetragen, daß unter der Analysenquarzlampe die Startflecke im kurzwelligen UV eine deutliche Fluoreszenzlöschung zeigten. Entwickelt wurde unter Standardbedingungen (Kammersättigung, Steighöhe 14 cm) mit dem Fließmittel Toluol-Äthylacetat (1:1, v/v). Nachweis der Substanzen: α) durch Betrachten bei Tageslicht; β) Betrachten unter der Analysenquarzlampe (β_1 bei 254 nm, β_2 bei 366 nm) und γ) nach Besprühen mit Dragendorffs Reagens (siehe hierzu E.STAHL, 1967).

Die Tabelle 2 zeigt in Übersicht die Ergebnisse der DC-Prüfung. Man erkennt, daß die Fraktionen T-5 und T-8 u.a. mit Dragendorffs Reagens positiv reagierende Stoffe enthalten. Wir hielten diese Substanzen für Alkaloide, zumal die Gattung Lycium eng mit der Gattung Atropa verwandt ist, einer Gattung, die sich durch reichliches Alkaloidvorkommen auszeichnet. Auf Grund der beschriebenen DC-Befunde und auf Grund taxonomischer Überlegungen konzentrierten wir uns auf die weitere Abtrennung der Alkaloide und auf deren Kristallisation.

2.4.3. Präparative Dünnschichtchromatographie der Fraktionen T-5 und T-8

a) Der Rückstand der Fraktion T-8 (550 mg, siehe Tabelle 2, man beachte, daß zweimal in der gleichen Weise säulenchromatographisch aufgetrennt wurde) wurde in etwa 100 ml warmem Chloroform aufgenommen, mit 1 g Aktivkohle 2-3 Minuten lang bei Raumtemperatur geschüttelt und sodann durch ein Faltenfilter filtriert, der Filtrerrückstand wurde mit wenig Chloroform 2x gewaschen, die Waschlösungen mit dem früheren Filtrat vereinigt und auf 2 ml in Vakuum eingeeengt. Zur präparativen DC-Trennung wurde diese Lösung auf 5 Dickschichtplatten (Schichtdicke 1 mm, Kieselgel F "Woelm" DC) aufgebracht und mit dem Fließmittel Aceton-Chloroform (1:9, v/v) entwickelt. Eine schmale Probezone wurde nach Trocknen der Platte mit Dragendorffs Reagens besprüht. Ergebnis: eine positive Zone bei $R_f=0,15$, die zugleich unter dem kurzwelligen UV Fluoreszenzlöschung zeigte. Die diesem R_f -Wert entsprechende Kieselgel-Zone wurde abgekratzt und das Kieselgel mit je 100 ml Chloroform dreimal heiß extrahiert. Die vereinigten Eluate wurden filtriert und der gelbliche Rückstand aus wenig Chloroform-Aceton kristallisiert: 35 mg farblose Nadeln, die bei $285-290^{\circ}\text{C}$ schmelzen. Wir bezeichnen diesen Stoff zunächst als Lyciumsubstanz A.

b) In gleicher Weise wurde mit dem Rückstand (230 mg) der Fraktion T-5 verfahren. Unterschiedlich zu den unter a) beschriebenen Verhältnissen, zeigte sich hier die mit Dragendorffs Reagens reagierende Zone bei $R_f=0,38$. Kristallisation aus Chloroform-Aceton ergab ebenfalls 35 mg farblose Nadeln vom Schmelzpunkt $260-265^{\circ}$ C. Wir bezeichnen diesen Stoff zunächst als Lyciumsubstanz B.

2.5. Auftrennung der Äthylacetatfraktion ÄAc

2.5.1. Säulenchromatographische Auftrennung in Fraktionen ÄAc-1 bis ÄAc-13

65 g ÄAc wurden in der erforderlichen Menge Chloroform gelöst, mit 65 g Celite in einer Reibschale verrieben und bei 50° C im Trockenschrank 2 Tage getrocknet, so daß ein streufähiges Pulver resultierte. Das Pulver wurde auf eine Säule (Ø 5,8 cm) gebracht, die mit 1000 g Kieselgel F Woelm (Korngröße 0,05-0,2 mm) beschickt war, mit 11 l einer Mischung bestehend aus Toluol-Chloroform-Aceton (40 + 25 + 35) eluiert (Tropfgeschwindigkeit 1,25 ml/Min.) und in Fraktionen zu je 25 ml aufgefangen. Jede Fraktion wurde dünnschichtchromatographisch geprüft (siehe Abschnitt 2.5.2.) und dem DC nach gleiche Fraktionen so vereinigt, daß zehn Hauptfraktionen ÄAc-1 bis ÄAc-10 resultierten. Sodann wurde mit dem stärker polaren Fließmittel Toluol-Aceton(1:1), insgesamt 3,5 l, eluiert. Es resultierten die Fraktionen ÄAc-11 bis ÄAc-13. Siehe hierzu die Tab. 3. Diese insgesamt 13 Eluatfraktionen wurden in Vakuum vom Lösungsmittel befreit und die Rückstände gewogen (siehe Tab. 3). Unter den angegebenen Bedingungen der Säulenchromatographie wurden 27 g eluiert, d.h. 58 % der ÄAc-Gesamtfraktion bleiben an der Säule. Dieser stark polare Anteil ließ sich mit Methanol-Wasser(1:1) zwar eluieren, doch wurde er nicht weiter untersucht.

Tabelle 3 : Analytische DC der Frakt. ÄAc-1 bis ÄAc-13

Gläser à 25 ml	Fraktion	Lösungsm.-Gem.	Rückstand	
			Menge(g)	DC-Werte ^{*)}
1-89	ÄAc-1	Tol.-Chl.-Acet. 45+25+35	12,35	α : 0,72 gr. **) β_2 : 0,72 r.
90-163	ÄAc-2	"	7,68	α : 0,59 hg. β_2 : 0,59 r. β_1 : 0,53 Fl.lö.
164-215	ÄAc-3	"	3,35	α : 0,53 hg β_2 : 0,53 r. β_2 : 0,5 Fl. β_1 : 0,4 Fl.lö.
216-255	ÄAc-4	"	1,8	β_2 : 0,46 bl.Fl. γ : 0,44 br.
256-280	ÄAc-5	"	0,2	α : 0,44 gr. β_1 : 0,43 Fl.lö. γ : 0,43 br.
281-308	ÄAc-6	"	0,5	α : 0,1 hg. β_1 : 0,43 Fl.lö. γ : 0,43 br.
309-346	ÄAc-7	"	0,32	β_1 : 0,28 Fl.lö. γ : 0,28 gra. α : 0,15 hbr. β_2 : 0,15 Fl.
347-382	ÄAc-8	"	0,67	β_1 : 0,37 Fl.lö. α : 0,1 br.
383-416	ÄAc-9	"	0,2	β_1 : 0,47 Fl.lö. α : 0,02 br.
417-438	ÄAc-10	"	0,45	β_2 : 0,44 Fl.
439-480	ÄAc-11	Tol.-Acet. (1:1)	0,82	β_2 : 0,44 Fl.
481-524	ÄAc-12	"	0,08	β_1 : 0,28 Fl.lö.
525-578	ÄAc-13	"	1,25	β_1 : 0,28 Fl.lö.

*) Fließmittel: Toluol-Aceton (1:1) ; Kieselgel F Woelm DC

**) siehe Text 2.5.2. und Tabelle 2

2.5.2. Analytische DC der Fraktionen ÄAc-1 bis ÄAc-13

Einige Milligramm der Rückstände ÄAc-1 bis ÄAc-13 wurden jeweils in etwa 5 ml Chloroform gelöst und von der Lösung so viel auf eine DC-Platte aufgetragen, daß unter der Analysenquarzlampe die Startflecke im kurzwelligen UV eine deutliche Fluoreszenzlöschung zeigten. Entwickelt wurde unter Standardbedingungen (Kammersättigung, Steighöhe 16 cm) mit dem Fließmittel Toluol-Chloroform-Aceton (45 + 25 + 35, v/v). Nachweis der Substanzen: α) durch Betrachten bei Tageslicht; β) Betrachten unter der Analysenquarzlampe (β_1 bei 254 nm, β_2 bei 366 nm) und γ) nach Besprühen mit Dragendorffs Reagens (siehe hierzu E.STAHL, 1967).

Die Tabelle 3 bringt in Übersicht die Ergebnisse der DC-Prüfung. Man erkennt, daß die Fraktion ÄAc-4 eine intensive Fluoreszenz aufweist, und die Fraktion ÄAc-5 sowohl eine intensive Fluoreszenzlöschung als auch nach Besprühen mit 1 %iger methanolischen FeCl_3 -Lösung braune Farbe zeigte. Bei der intensiv unter der Analysenquarzlampe fluoreszierenden Substanz konnte es sich aller Erfahrung nach um ein Cumarinderivat handeln: Cumarine sind generell stark fluoreszierende Inhaltsstoffe und nicht zuletzt bei Solanaceen ziemlich weit verbreitet.

2.5.3. Präparative Dünnschichtchromatographie der Fraktionen ÄAc-4 und ÄAc-5

Die Auswertung der Tabelle 3 (siehe auch Abschnitt 2.5.2.) ergab, daß mengenmäßig — beurteilt entweder nach dem Grad der Fluoreszenzlöschung oder nach der Intensität der Fluoreszenz — lediglich zwei dc-geortete Substanzen vorherrschend sind: Die intensiv blau fluoreszierende Substanz bei $R_f = 0,46$ aus der Fraktion ÄAc-4 und die stark fluoreszenzlöschende und zugleich FeCl_3 -positive Substanz bei $R_f = 0,43$ der Fraktion ÄAc-5. Zwar ist es möglich, jede der Fraktionen ÄAc-1 bis ÄAc-13 erneut säulenchromatographisch aufzutrennen, um möglichst viele Substanzen in die Hände zu bekommen. Da jedoch im Hintergrund meiner Bearbeitung vor allem die "Wirkstoff-Frage" stand, mußten mich bevorzugt Inhaltsstoffe interessieren, die nicht in allzu winzigen Mengen vorkommen. Aus diesem Grund setzte ich es mir zum Ziele, die beiden oben genannten auffallenden und mengenmäßig vorherrschenden Substanzen zu isolieren. Als einfachste Methode bot sich die präparative DC an.

a.) Der Rückstand der Fraktion ÄAc-4(1,8 g, siehe Tabelle 3, man beachte, daß zweimal in der gleichen Weise säulenchromatographisch aufgetrennt wurde, daher die dort angegebenen Gewichtsmengen mit dem Fraktor 2 zu multiplizieren sind.) wurde in 20 ml warmem Chloroform aufgenommen.

Zur präparativen DC-Trennung wurde diese Lösung auf 20 Dickschichtplatten (Schichtdicke 1 mm, Kieselgel F Woelm DC) aufgebracht und mit dem Fließmittel Chloroform-Aceton (9:1, v/v) entwickelt. Die DC-Platten wurden erst unter dem langwelligigen UV betrachtet; sodann wurde die intensiv blau fluoreszierende Zone bei $R_f = 0,25$ abgekratzt und das abgelöste Kieselgel mit je 100 ml Chloroform dreimal heiß extrahiert. Die vereinigten Eluate wurden filtriert und der gelbe Rückstand aus wenig Chloroform-Aceton kristallisiert. Es resultierten nach Abnutschen 65 mg gelbe Nadeln, die bei $203-205^{\circ}\text{C}$ (Kofler-Heiztischmikroskop) schmolzen. Wir bezeichnen diesen Stoff zunächst als Lyciumsubstanz I.

b.) In gleicher Weise wurde mit dem Rückstand der Fraktion ÄAc-5 (400 mg) verfahren. Unterschiedlich zu den unter a.) beschriebenen Verhältnissen wurde eine schmale Probezone mit FeCl_3 -Reagens besprüht und die dieser Substanz entsprechende Kieselgel-Hauptzone abgekratzt. Aus Chloroform-Aceton kristallisierten 10 mg farblose Nadeln vom Schmp. $208-210^{\circ}\text{C}$ (Kofler-Heiztischmikroskop). Wir bezeichnen diesen Stoff zunächst als Lyciumsubstanz II.

2.6. Charakterisierung und Identifizierung der aus der Fraktion T gewonnenen Reinsubstanzen

2.6.1. Kristallisate aus den Fraktionen T-1 und T-2

Der hellgrüne, wachsartige Rückstand der Fraktion T-1(siehe dazu Abschnitt 2.4.1.) wurde getrocknet und nach dem Trocknen in heißem Chloroform gelöst, worauf sich beim Abkühlen ein kristalliner Niederschlag in Form glänzender Blättchen bildete. Der Niederschlag wurde abgenutscht und aus Chloroform umkristallisiert. Es resultierten 1,5 g Blättchen, die bei 65-70° C schmelzen und mit konzentrierter Schwefelsäure keine Verfärbung zeigten(Tüpfelreaktion). Im folgenden wählen wir für diese Substanz die Laborbezeichnung "Kristalle T-1".

- IR(KBr): 2950-2840(s, Alkylgruppe), 1450, 1370, 720 cm^{-1} (Alkylgruppe). - NMR(60-MHz, CDCl_3): τ = 8,75 (s, $-\text{CH}_2-$), 9,10(s, CH_3). - MS(200°): 464(M^+ , 5), 449(10), 435(25), 421(20), 407(15), 393(30), 379(30), 365(41), 44(75). - UV(Äthanol): keine Absorption über 210 μ .

$\text{C}_{33}\text{H}_{68}$ (464,87)	Ber. C 85,26
	H 14,74
	Gef. C 85,12
	H 14,88

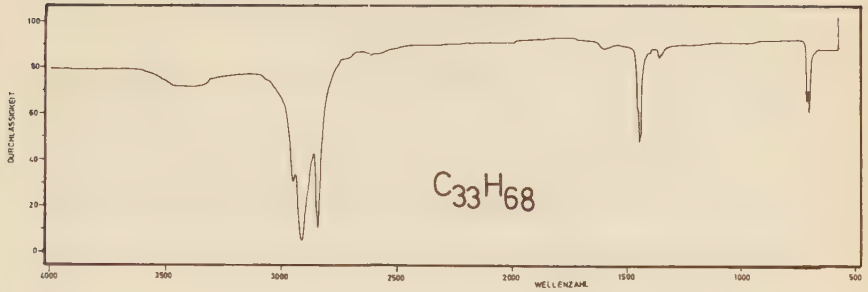


Abbildung 3: IR-Spektrum der Verbindung
T-1 (KBr).

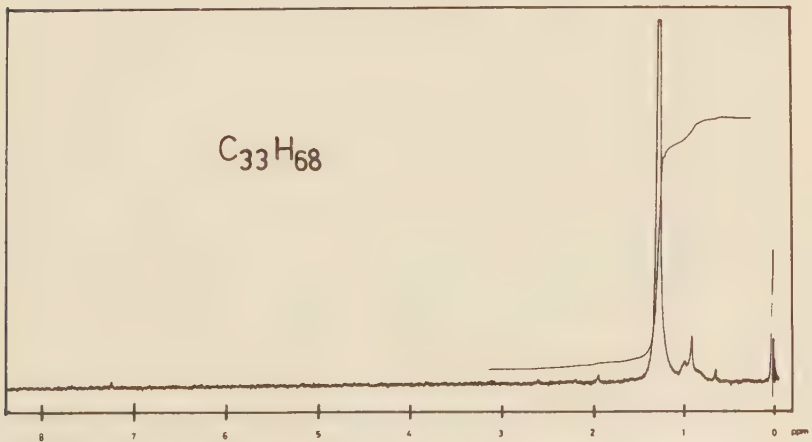


Abbildung 4: 60-MHz- NMR-Spektrum der
Verbindung T-1 (in $CDCl_3$).

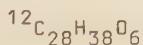
Völlig analog wurde mit dem Rückstand der Fraktion T-2 verfahren. In diesem Falle fielen 0,6 g weiße Blättchen vom Schmp. 65-70⁰C an, die gleichermaßen wie die Kristalle T-1 beim Tüpfeln mit konz. Schwefelsäure keine Verfärbung zeigten. Sie wurden im folgenden mit der Laborbezeichnung "Kristalle T-2" versehen. Gemäß den IR-, NMR-, MS- und UV-Spektren zeigten die Kristalle T-2 die gleichen Daten wie die der Kristalle T-1. Daraus folgt, daß die beiden Substanzen identisch sind.

Die Daten zeigten deutlich, daß es sich hier um n-Tritriacontan, einem weit verbreiteten Kohlenwasserstoff handelt.

2.6.2. Lyciumsubstanz A: Identifizierung als 5,20 α -
Dihydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-witha-2,24-dienolid

Wie üblich wurden zunächst von der isolierten Substanz sämtliche physikalischen Daten wie Schmelzpunkt, optische Drehung, UV-, IR-, NMR- und Massen-Spektren aufgenommen. In den Abbildungen 5, 6, 8 sind die Spektren graphisch wiedergegeben. Ihre zahlenmäßige Auswertung sowie weitere physikalische Daten sind nachstehend wiedergegeben.

T-8(Lyciumsubstanz A): Schmp. 285- 290°C. $[\alpha]_D^{20} = + 97,5$ (c = 0,12 g/100 ml CHCl₃). - CD (Dioxan): $\lambda_{\max}(\Delta \epsilon) = 257(+3,23), 302(-2,00), 367(-0,855)$. - IR(KBr): 3580(OH), 3420(OH), 2985, 2895, 1710(α, β -ungesät. Laktone), 1675(α, β -ungesät. Keton), 1650, 1460, 1420, 1385, 1370, 1290, 1200, 1125, 1090, 905, 850, 810, 785, 755 cm⁻¹. - UV(Methanol): $\lambda_{\max}(\log \epsilon) = 225(4,135)$. - ¹H-NMR CDCl₃, 100-MHz): $\tau = 9,06(3H, s, 18-H), 8,84(3H, s, 19-H), 8,69(3H, s, 21-H), 8,05$ u. $8,10(6H, 2s, 27-$ und $28-H), 6,98(1H, d, J = 4$ Hz, 6-H), $6,71(1H, dd, J = 4;1$ Hz, 7-H), $5,79(1H, dd, J = 12;4$ Hz, 22-H), $4,18(1H, dq, J = 10;3;1$ Hz, 2-H), $3,44(1H, dq, J = 10;4,5;2,5$ Hz, 3-H). - MS: 65°C (relat. Intensität %), m/e = 470(M⁺, 3), 345(13), 312(18), 309(11), 239(10), 225(10), 223(15), 211(13), 209(10), 199(11), 197(17), 193(12), 189(13), 185(12), 181(13), 178(15), 173(13), 171(27), 168(21), 159(16), 147(16), 145(18), 126(100), 125(77), 124(16), 123(15), 122(10), 121(27), 119(20), 110(23), 109(25), 107(28), 105(30), 97(43), 91(40), 81(36), 79(41), 77(36), 71(38), 69(35), 68(26), 67(58), 65(15), 55(67), 51(22), 44(44).



Mol.-Masse

Ber.: 470,2668

Gef.: 470,2668

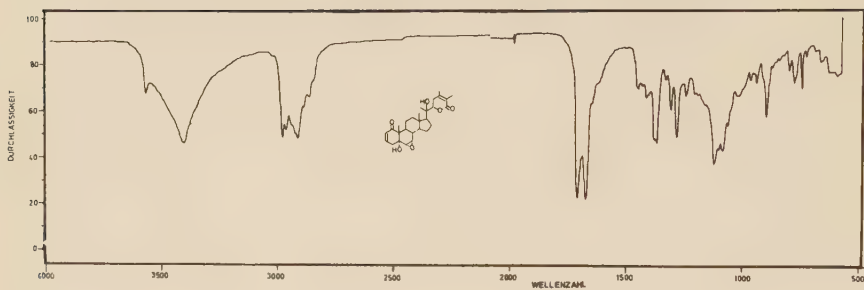


Abbildung 5 : IR-Spektrum der Verbindung
Lyciumsubstanzen A (KBr Preßling)

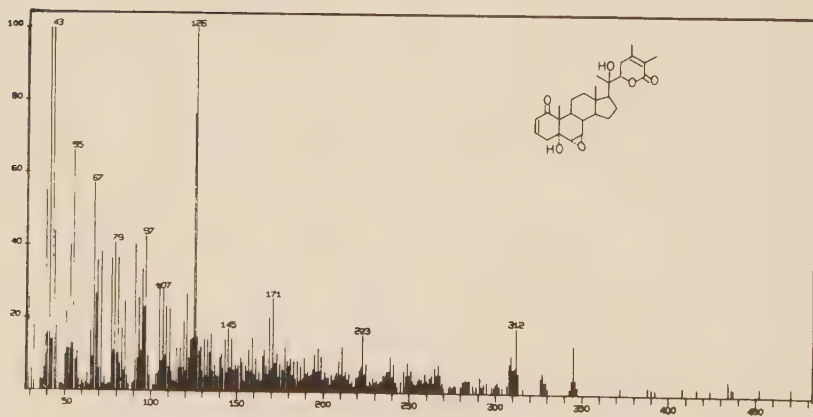


Abbildung 6 : Massenspektrum der Verbindung
Lyciumsubstanzen A

Interpretation: Der Substanz vom Schmp. $285-290^{\circ}\text{C}$ kommt gemäß hochauflösendem MS die Bruttoformel $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_6$ zu. Das NMR zeigt Gruppen von nicht aufgelösten Signalen im Bereich $\tau = 8,0 - 9,3$ und aus diesem Bereich herausragende Singulets, die offensichtlich Methylgruppen zuzuordnen sind. Es konnte sich demnach um ein Steroid handeln. Im IR ergaben sich Anhaltspunkte für das Vorliegen einer Ester- oder Laktongruppe und einer Hydroxylfunktion. Eine Durchsicht der Literatur ergab, daß eine Substanz mit den physikalischen Daten, wie wir sie für Lyciumsubstanz A gefunden haben, bereits beschrieben ist: die nachstehende Tabelle 4 zeigt vergleichend die in der Literatur angegebenen und die von uns für Lyciumsubstanz A gefundenen Daten. Danach konnte es sich bei Lyciumsubstanz A um das von S.S.SUBTAMANIA (1971) und H.G.MENSSEN (1973) beschriebene Withanolid handeln. Wir haben daraufhin Herrn Dr. MENSSSEN um die Überlassung einer authentischen Probe von $5,20\alpha$ -Dihydroxy- $6\alpha,7\alpha$ -epoxy-1-oxo-witha-2,24-dienolid^{*)} [4] gebeten.

Der Schmelzpunkt einer Verreibung aus beiden Substanzen zeigt keine Depression.

Lyciumsubstanz A :	Schmp. $285-290^{\circ}\text{C}$
Probe Dr. MENSSSEN:	Schmp. $295-300^{\circ}\text{C}$
Verreibung der beiden	
Substanzen :	Schmp. $287-290^{\circ}\text{C}$

^{*)} Herrn Dr. H.G.MENSSEN danke ich für die Überlassung der Substanzprobe.

	Lyciums substanz A	S.S.SUBRAMANIA (1971)	G.MENSSEN (1973)
Schmp.	285-290° C	282-4° C	295-300° C
Bruttoformel	C ₂₈ H ₃₈ O ₆	C ₂₈ H ₃₈ O ₆	C ₂₈ H ₃₈ O ₆
MS(Hauptfragmente)	m/e 125, <u>126</u> , 345, 470 M ⁺	m/e 125, <u>126</u> , 345, 470 M ⁺	m/e 125, <u>126</u> , 345, 470 M ⁺
NMR (τ)	9,06 (s, 18-H) 8,84 (s, 19-H) 8,69 (s, 21-H) 8,05 u. 8,10 (2s, 27- u. 28-H) 6,98 (d, 6-H) 6,71 (dd, 7-H) 5,79 (dd, 22-H) 4,18 (dq, 2-H) 3,44 (dq, 3-H) 3580, 3420, 1710, 1675, 1650, 1290, 1125, 905	9,05 (s, 18-H) 8,82 (s, 19-H) 8,69 (s, 21-H) 8,07 (s, 27 u. 28-H) 6,95 (d, 6-H) 6,67 (dd, 7-H) 5,74 (dd, 22-H) 4,14 (dq, 2-H) 3,39 (dq, 3-H) 1695, 1680	9,05 (s, 18-H) 8,82 (s, 19-H) 8,72 (s, 21-H) 8,07 u. 8,12 (2s, 27- u. 28-H) 6,91 (d, 6-H) 6,68 (dd, 7-H) 5,76 (dd, 22-H) 4,12 (dq, 2-H) 3,38 (dq, 3-H) 3595, 3420, 1725, 1685, 1290, 1135, 910
IR			

Tabelle 4 : Vergleichende Gegenüberstellung physikalischer Daten von Lyciums substanz A und 5,20α-Dihydroxy-6α,7α-epoxy-1-oxo-witha-2,24-dienolid.

Im IR-Überlagerungsspektrum sind beide Substanzen deckungsgleich (Abb. 7). Die Rf-Werte in drei Lösungsmittelsystemen stimmen überein (Tab. 5).

Substanzen	Rf-Werte ^{*)}			Dragend. Reagens
	I	II	III	
Lyciumsubst. A	0,19	0,17	0,44	positiv
Probe Dr. MENSSEN	0,19	0,17	0,44	positiv

Tabelle 5:

*)

Adsorbens: Kieselgel-Fertigplatten Merck F254

Fließmittel: I) Chloroform-Aceton (9:1)

II) Toluol-Äthylacetat (5:5)

III) Toluol-Methanol-Eisessig (9:1:0,1)

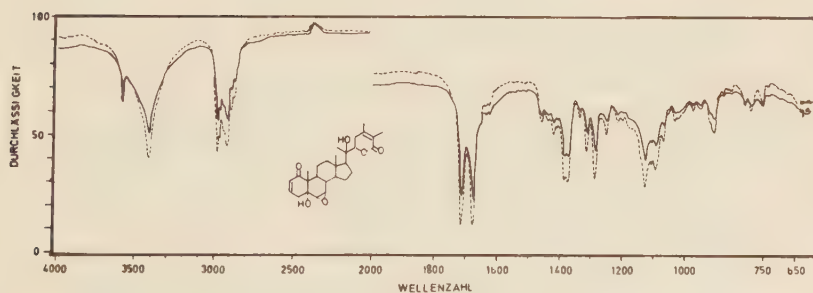


Abbildung 7: IR-Überlagerungsspektrum von Lyciumsubstanz A und 5,20α-Dihydroxy-6α,7α-epoxy-1-oxo-witha-2,24-dienolid

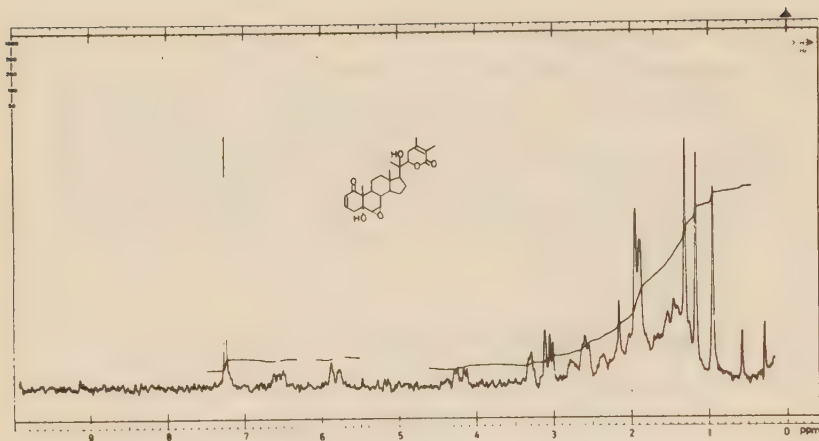
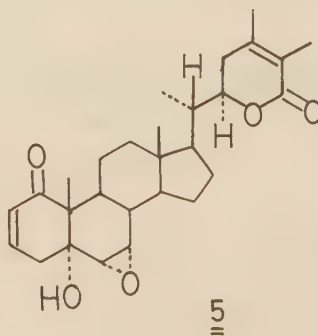
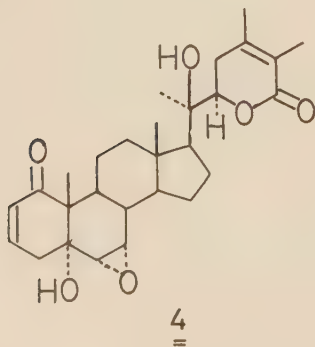


Abbildung 8 : 100-MHz-NMR-Spektrum der Verbindung
Lyciumsubstantz A (in CDCl₃)

Die experimentellen Ergebnisse erlauben demnach klar folgendes auszusagen: Es handelt sich bei der Lyciumsubstantz A um das bereits in der Literatur beschriebene Withanolid der Konstitution 5,20 α -Dihydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-witha-2,24-dienolid [4].



2.6.3. Lyciumsubstanz B: Konstitutionsaufklärung eines neuen Withanolids

Analog wie im Falle der Lyciumsubstanz A wurden wiederum die spektralen Daten aufgenommen. In den Abbildungen 9, 10, 11 sind die Spektren graphisch wiedergegeben. Ihre zahlenmäßige Auswertung sowie weitere physikalische Daten sind nachstehend aufgeführt.

T-5 (Lyciumsubstanz B): Schmp. 260-265°C.
 $[\alpha]_D^{20} = +107,3 (c=0,15 \text{ g/100 ml, CHCl}_3)$. — CD (Dioxan):
 $\lambda_{\max} (\Delta \epsilon) = 257(+3,42), 302(-0,272), 340(-0,34), 368(-0,924)$. — UV (Methanol): $\lambda_{\max} (\log \epsilon) = 225(4,142)$.
 — IR (KBr Preßling): 3430(OH), 2850-2960(-CH₃ und -CH₂), 1695(α,β-ungesätt. Lakton), 1680(α,β-ungesätt. Keton), 1450, 1390, 1370, 1290, 1250, 1120, 1090, 900, 875, 795, 760 cm⁻¹. — ¹H-NMR (CDCl₃, 100-MHz): $\tau = 9,22(3\text{H, s, 18-H}), 8,97(3\text{H, d, 21-H}), 8,82(3\text{H, s, 19-H}), 8,11(3\text{H, s, 27-H}), 8,05(3\text{H, s, 28-H}), 6,96(1\text{H, d, J=4 Hz, 6-H}), 6,71(1\text{H, dd, J=4;1 Hz, 7-H}), 5,63(1\text{H, dt, J=12;4 Hz, 22-H}), 4,16(1\text{H, dq, J=10;3;1 Hz, 2-H}), 3,42(1\text{H, dq, J=10;4,5;2,5 Hz, 3-H})$. — MS (65°C, relat. Intensität %):
 m/e = 454(M⁺, 5), 329(22), 281(10), 235(10), 224(10), 223(11), 197(12), 195(10), 181(30), 173(12)? 171(15), 161(15), 159(18), 157(15), 147(18), 145(16), 143(16), 135(20), 133(18), 131(17), 126(18), 125(100), 123(11), 119(17), 117(11), 111(13), 109(30), 107(24), 105(21), 97(53), 95(25), 93(25), 91(20), 83(9), 81(30), 79(22), 77(10), 69(33), 68(17), 67(40), 57(8), 55(35), 53(16), 43(52), 41(44), 39(11).



Mol.-Masse

Ber.: 454,2719

Gef.: 454,2719

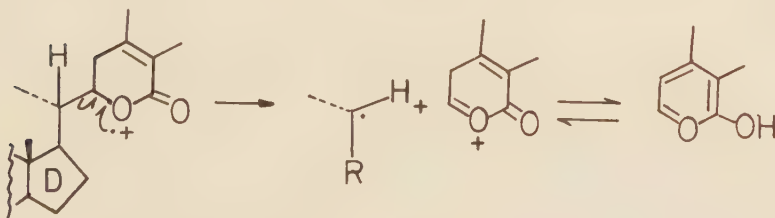
Interpretation: Bereits ein flüchtiger Vergleich der Spektren von Lyciumsubstanzen A und B zeigt, daß beide Substanzen eng miteinander verwandt sind, daß es sich bei Lyciumsubstanz B demnach vermutlich um eine Struktur-Variante der Substanz A handelt. Der Vergleich der Bruttoformeln führt zu der Arbeitshypothese, daß Lyciumsubstanz B ein Desoxy-Derivat von Lyciumsubstanz A darstellen dürfte. Das Problem reduziert sich demnach auf die folgenden Fragen: 1) liegt das 5- oder 20-Desoxy-Derivat vor? 2) stimmen die beiden Withanolide in ihrer Stereochemie überein?

Ad 1) Wie im theoretischen Teil (Seite 67) näher ausgeführt, ergibt sich aus dem MS klar, daß es sich um das 20-Desoxy-Derivat handeln muß. Betrachtet man die beiden Formelbilder 4 und 5, in welche auf Seite 49 und 50 bereits die erwartete Fragmentierung (NAKANISHI-Darstellung) eingetragen ist und vergleicht man damit die tatsächlich im Spektrum auftretenden signifikanten Bruchstücke (Abb. 6 und 10), so läßt sich die Konstitutionsfrage folgendermaßen angehen: Fragmentierung a muß bei beiden Substanzen, bei A sowohl als auch bei B, zu identischen s-Teilen ($m/e = 125$) führen, während der k-Teil die Massendifferenz 16 aufweisen muß, was tatsächlich zutrifft ($m/e = 345$ für Lyciumsubstanz A und $m/e = 329$ für Lyciumsubstanz B). Fragmentierungen b bis j verlaufen im k-Teil bei beiden Substanzen völlig gleich, während sich nunmehr im s-Teil die charakteristische Massendifferenz von 16 zeigt:

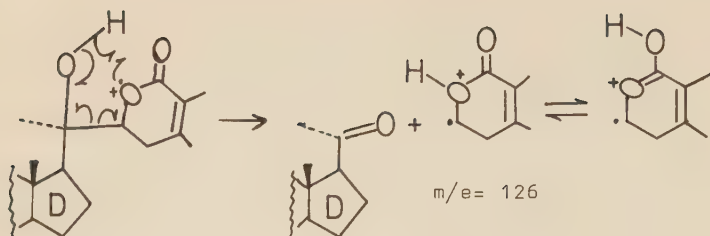
	b (s)-Teil
Lyciumsubstanz A	169
Lyciumsubstanz B	153

Demnach würden allein schon die Massenspektren der beiden Substanzen zu der Behauptung berechtigen, daß es sich bei der bisher in der Literatur nicht beschriebenen Lyciumsubstanz B um das 20-Desoxy-Derivat des bekannten Withanolid 5,20 α (R)-Dihydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-witha-2,24-dienolid (= Lyciumsubstanz A) handelt.

Ein ergänzendes Argument besteht in folgendem: zwar tritt bei beiden Lyciumsubstanzen, wie schon erwähnt, ein charakteristischer Peak $m/e = 125$ auf, jedoch fehlt sehr auffallend bei Lyciumsubstanz B das Fragment $m/e = 126$, das im Falle der Lyciumsubstanz A als Basispeak erscheint. Offensichtlich besteht im Falle der Lyciumsubstanz A die Möglichkeit des H-Transfers von 20-Hydroxyl zum O des Laktonringes^{*)}:



^{*)} Ich danke Herrn Prof. Dr. H. RIMPLER, Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der FU Berlin herzlich, für diesen Hinweis.



Daß es sich bei Lyciumsubstanz B um das 20-Desoxyderivat der Lyciumsubstanz A handelt, ergibt sich eindeutig aus dem Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren (aufgenommen in CDCl_3). Das 21-CH_3 -Signal, im Falle der Lyciumsubstanz A ein Singulett bei $\tau = 8,69$, wird unter Aufspaltung zum Dublett ($J=6\text{ Hz}$) nach höherem Feld $\tau = 8,97$ verschoben. Das 18-CH_3 -Signal wird unter Erhaltung der Multiplizität ebenfalls nach höherem Felde verschoben (von $\tau = 9,06$ nach $\tau = 9,22$), während das dem 22-H zuzuordnende Doppeldublett $\tau = 5,79$ im Falle der Lyciumsubstanz B als Doppeltriplett bei $\tau = 5,63$ erscheint. Ansonsten stimmen die NMR-Spektren der beiden Substanzen überein.

Ad 2) Die Frage der stereochemischen Übereinstimmung: Die CD-Kurven der beiden Substanzen sind weitgehend deckungsgleich (Tabelle 6).

Tabelle 6: CD-Werte der Lyciumsubstanzen A und B

	λ_{max} ($\Delta\epsilon$)
Substanz A	257(+3,23), 302(-0,215), 341(-2,00), 357(-0,855)
Substanz B	257(+3,42), 302(-0,272), 340(-0,34), 368(-0,924)

Zusammenfassend: Bei der als Lyciumsubstanz B bezeichneten, aus Blättern von *Lycium chinense* isolierten Verbindung handelt es sich um 5 α -Hydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-witha-2,24-dienolid, eine bisher nicht beschriebene Variante [5] der Withanolidreihe.

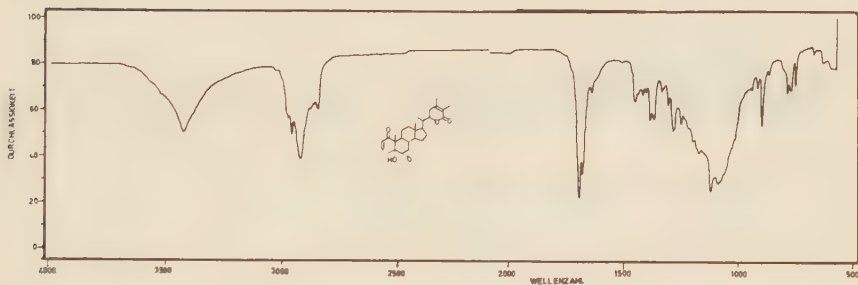


Abbildung 9: IR-Spektrum der Verbindung Lycium-
substanz B

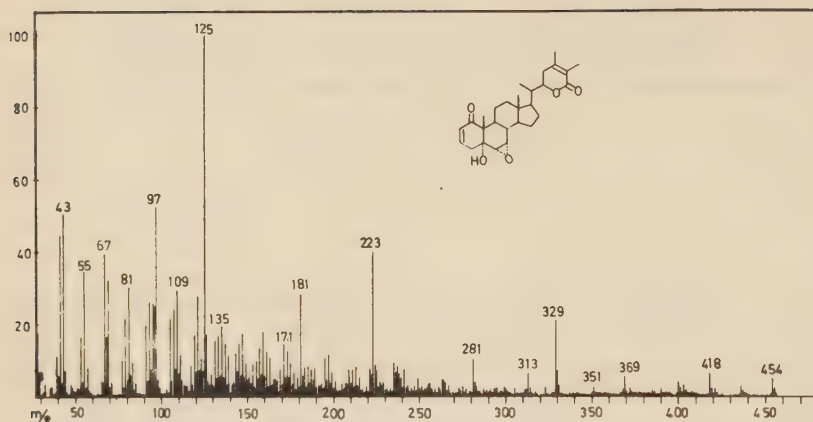


Abbildung 10: Massenspektrum der Verbindung
Lyciumsubstanzen B

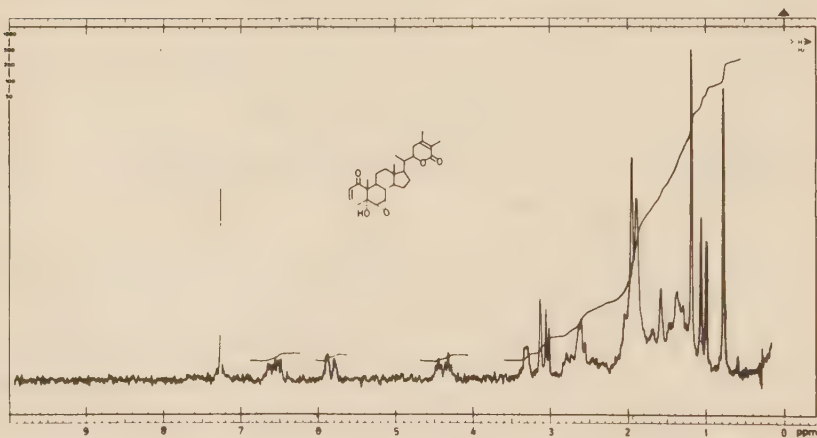


Abbildung 11: 100-MHz-NMR-Spektrum der Verbindung
Lyciumsubstanzen B

Kern (k), M^+ = 470

(a-k)	m/e	345
(b-k)		301
(c-k)		274
(d-k)		260
(e)		192+278
(f)		166+304
(g ₁)		153+317
(g ₂)		137+333
(i)		124+346
(j)		68+402

a bis j = Spaltungen

Seitenkette (s)

(a-s)	m/e	125
		126
(b-s)		169
(c-s)		196
(d-s)		210

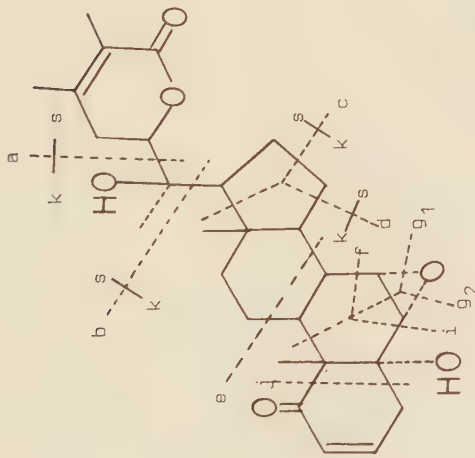


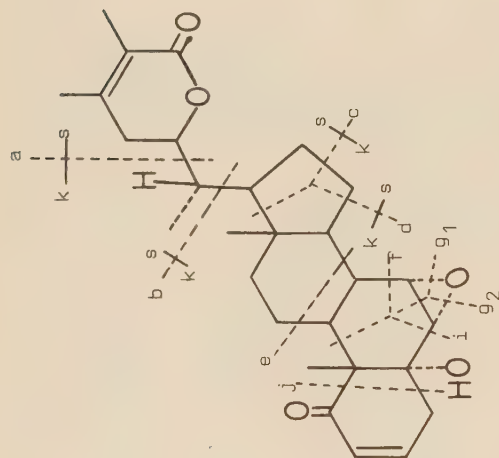
Abbildung 12: Mögliche Spaltungen von Lyciumsubstance A

(Zur Wiedergabe der Fragmentierung siehe

NAKANISHI, 1971)

Kern (k), m^+ = 454		
(a-k)	m/e	329
(b-k)		301
(c-k)		274
(d-k)		260
(e)		192+262
(f)		166+288
(g ₁)		153+301
(g ₂)		137+317
(i)		124+330
(j)		68+386

a bis j = Spaltungen



Seitenkette (s)	
(a-s)	m/e 125
(b-s)	153
(c-s)	180
(d-s)	194

Abbildung 13: Mögliche Spaltungen von Lyciumsubstanz B
(Zur Wiedergabe der Fragmentierung siehe
NAKANISHI, 1971)

2.7. Charakterisierung und Identifizierung der aus der Äthylacetatfraktion ÄAc gewonnenen Reinsubstanzen

2.7.1. Kristallisat aus ÄAc-4: Scopoletin

Wie üblich wurden zunächst von der isolierten Substanz sämtliche physikalischen Daten wie Schmelzpunkt, UV-, IR-, NMR- und Massen-Spektren aufgenommen. In den Abbildungen 14, 15, 16 sind die Spektren graphisch wiedergegeben. Ihre zahlenmäßige Auswertung sowie weitere physikalische Daten sind nachstehend wiedergegeben.

ÄAc-4 (Scopoletin): Schmp. 203-205°C.
-MS (120°C, relat. Intensität %): m/e = 192(M⁺, 3), 181 (15), 131(43), 115(14), 105(14), 93(11), 81(11), 80(15), 77(18), 69(46), 57(14), 55(14), 51(11), 50(13), 44(100), 43(43), 35(57). - ¹H-NMR (in DMSO d₆, 60-MHz): τ = 6,18 (3H, s, 6-Methoxy), 3,78(1H, d, 3-H), 3,2(1H, s, 8-H), 2,78(1H, s, 5-H), 2,1(1H, d, 4-H), -0,68(1H, s, 7-Hydroxyl).
- IR (KBr): 3340(OH), 3030(Ar-H), 2930, 2850, 1700, 1620, 1600, 1440, 1470, 1260, 1195, 1090, 850, 815, 740 cm⁻¹.
- UV (c = 0,012 g/l, Äthanol): $\lambda_{\max}(\log \epsilon) = 228(4,015)$, 296(3,112), 345(3,125).

$^{12}\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$	Mol.-Masse	Ber.: 192,0422
		Gef.: 192,0422

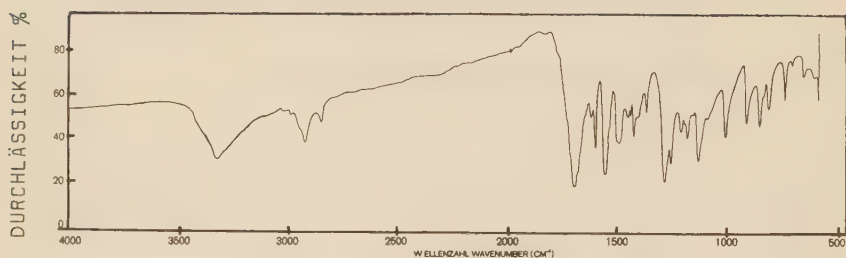


Abbildung 14: IR-Spektrum der Verbindung
ÄAc-4(Scopoletin)

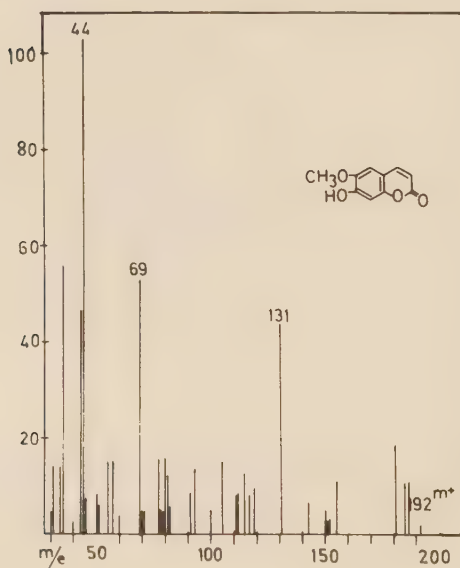


Abbildung 15: Massenspektrum der Verbindung
ÄAc-4(Scopoletin)

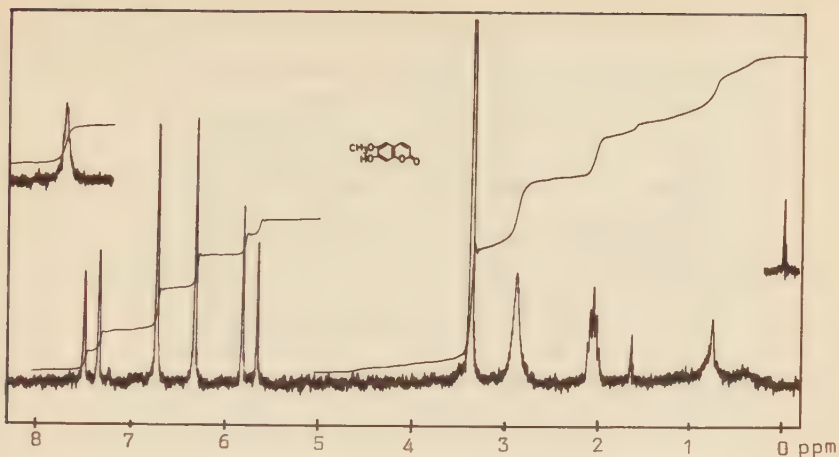


Abbildung 16: 60-MHz-NMR-Spektrum der Verbindung

"ÄAc-4"

Auffallend ist einmal die Sublimierbarkeit der Substanz, sodann ihre blaue Fluoreszenz unter der Analysenquarzlampe. IR- und NMR-Spektren weisen zudem ihren aromatischen Charakter nach. Daß es sich um ein Coumarin handeln dürfte — da Coumarine im Pflanzenreich eine weit verbreitete Stoffgruppe darstellen —, lag auf der Hand. Die Durchsicht der Literatur zeigte (L.I.SCOTT, 1964; V.I.VELIKANOVA et al., 1972), daß die physikalischen Daten der isolierten Substanz gut mit denen des Scopoletins übereinstimmen. Zudem wurde Scopoletin bereits aus mehreren Solanaceen (aus Vertretern der Gattungen *Atropa*, *Capsicum*, *Datura*, *Lycium*, *Nicotiana*, *Solanum* und *Withania* [Literatur bei R. HEGNAUER, 1973]) isoliert. Eine aus dem Handel (Fa. Carl Roth-Karlsruhe) bezogene authentische Probe zeigte im Mischschmelz-

punkt mit der isolierten Substanz ÄAc-4 keine Depression:

Substanzen	Schmp.
ÄAc-4	203-205° C
authentische Probe (Scopoletin)	204-205° C
Verreibung der beiden Substanzen	203-205° C

Tabelle 7: Schmelzpunkte und Mischschmelzpunkt der ÄAc-4 und einer authentischen Probe (Scopoletin)

Dünnschichtchromatographisch zeigen beide Substanzen dasselbe Laufverhalten (Tabelle 8). Im IR-Überlagerungsspektrum sind beide Substanzen deckungsgleich (Abb. 17).

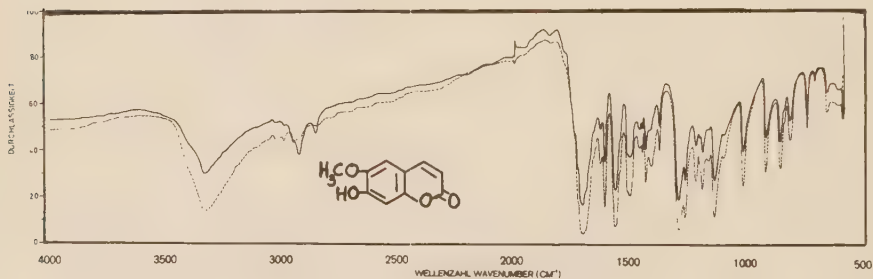


Abbildung 17: IR-Überlagerungsspektrum von ÄAc-4 (Ly I) und Scopoletin

Tabelle 8: Chromatogramm der Substanzen ÄAc-4 und
der authentischen Probe (Scopoletin)

Verbindungen	Rf-Werte *)
ÄAc-4	0,2
authentische Probe (Scopoletin)	0,2

*)

Kieselgel-Fertigplatten: Merck F254

Fließmittel: Toluol-Chloroform-Aceton (40 + 25 + 35)

Nachweis : 1) Analysenquarzlampe (langwellig)

2) 1 %ige methanolische FeCl_3 -Lösung

2.7.2. Kristallisat aus ÄAc-5: Vanillinsäure

Spektren bzw. physikalische Daten seien zunächst nachstehend wiedergegeben.

ÄAc-5: Schmp. 208-210° C. — MS, 65°C (relat. intensität %): m/e = 168(100, M⁺), 154(55), 153(60), 151(15), 129(19), 123(6), 108(6), 97(31), 80(5), 79(11), 65(6), 63(8), 55(11), 52(20). — ¹H-NMR (Pyridin-d₅, 90-MHz): τ = 6,22(3H, s, 3-OCH₃), 2,68(1H, d, J=9 Hz, Ar-H), 1,89(2H, m [Schwerpunkt], Ar-H). — IR (KBr): 3475 (OH), 3100-2700(OH, H-Brücke der Carbonsäure), 2850(OCH₃), 1675(C=O), 1595 und 1520(Ar-C=C), 875-800(para-disubst.), 760-715 cm⁻¹. — UV (Äthanol): $\lambda_{\max}$ (log ϵ) = 260 nm(4,13), 291 nm(3,11).

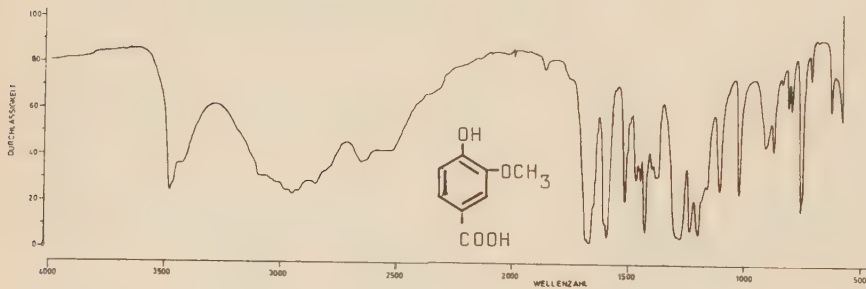


Abbildung 18: IR-Spektrum der Verbindung

ÄAc-5(Ly II)

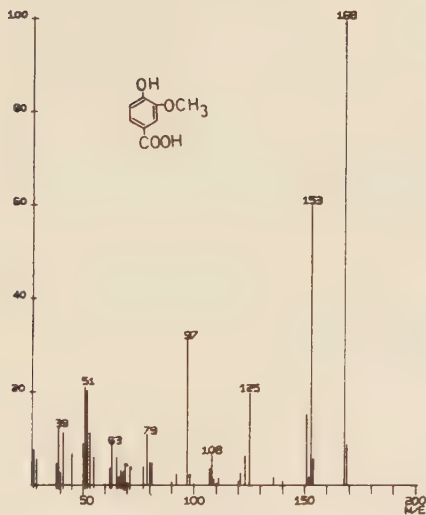


Abbildung 19: Massenspektrum der Verbindung
ÄAc-5(Ly II)

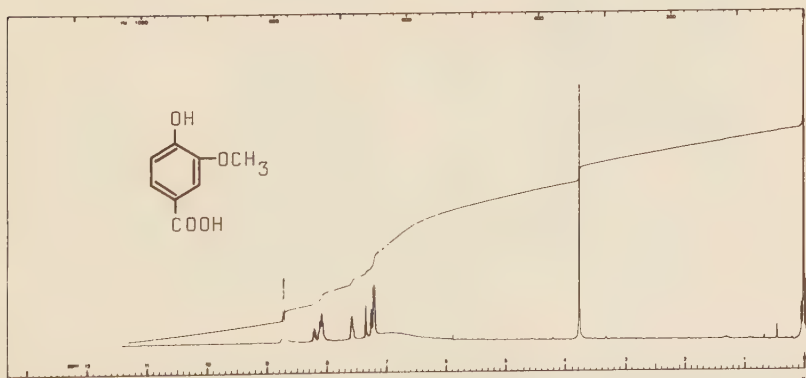


Abbildung 20: 90-MHz-NMR-Spektrum der Verbindung
ÄAc-5(Ly II)

Die Verbindung von Schmp. 208-210^o hat gemäß CH-Analyse in Verbindung mit dem MS die Bruttoformel C₈H₈O₄. Alle spektralen Daten (MS, NMR, IR) weisen auf einen aromatischen Körper hin, der gemäß IR(Absorption bei 3475, 3100-2700, 1675 cm⁻¹) an funktionellen Gruppen eine Hydroxyl-und Carboxylgruppe tragen muß. Im NMR finden wir das für einen Ar-OCH₃-Rest typische 3-Protonen-Singulett bei τ = 6,22. Nach dem in der Literatur angegebenen Schmp. 205-206^o für Vanillinsäure schien die Identität von ÄAc-5 mit der Säure wahrscheinlich.

Eine aus der Handel (Fluka AG, Schweiz) bezogene authentische Probe zeigte im Mischschmelzpunkt mit der isolierten Substanz ÄAc-5 keine Depression:

Substanzen	Schmp.
ÄAc-5	208-210 ^o
authent. Probe (Vanillinsäure)	205-206 ^o
Verreibung der beiden Subst.	206-209 ^o

Tab. 9: Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt der Substanz ÄAc-5 und einer authentischen Probe von Vanillinsäure

Dünnschichtchromatographisch zeigen beide Substanzen dasselbe Laufverhalten(Tab. 10). Die IR-Spektren sind deckungsgleich(Abb. 21).

Substanzen	Rf-Werte ^{*)}
ÄAc-5	0,2 (braun)
authent. Probe	0,2 (braun)

Tab. 10: Chromatogramm der Substanz ÄAc-5 und einer authentischen Probe (Vanillinsäure)

*)

Kieselgel-Fertigplatten: Merck F254

Fließmittel: Toluol-Äthylacetat (96 + 4)

Nachweis : 1) Analysenquarzlampe (kurzwellig)

2) 1-%ige methanolische FeCl_3 -Lösung

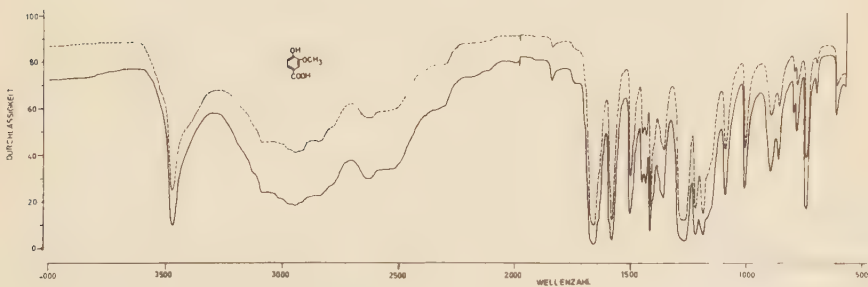
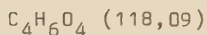


Abbildung 21: IR-Überlagerungsspektrum von ÄAc-5 und Vanillinsäure

2.7.3. Kristallisat aus ÄAc-13: Bernsteinsäure

Spektren bzw. physikalische Daten seien zunächst nachstehend wiedergegeben.

ÄAc-13 (Bernsteinsäure): Schmp. 183-185°. — MS (75°, relat. Intensität %): $m/e = 118(M^+, 10)$, 91(15), 77(20), 55(18), 44(100). — 1H -NMR ($DMSO_{d6}$, 60-MHz): $\tau = 7,53(4H, s, -OC-CH_2-CH_2-CO-)$, $-3,33(1H, \text{breites Signal, } -COOH)$. — IR(KBr Preßling): 3000-2500(COOH), 1730-1680($C=O$), 1410, 1400, 1310, 1300, 1190, 1160, 910 cm^{-1} .



Ber.: C = 40,68 H = 5,12

Gef.: C = 40,47 H = 5,13

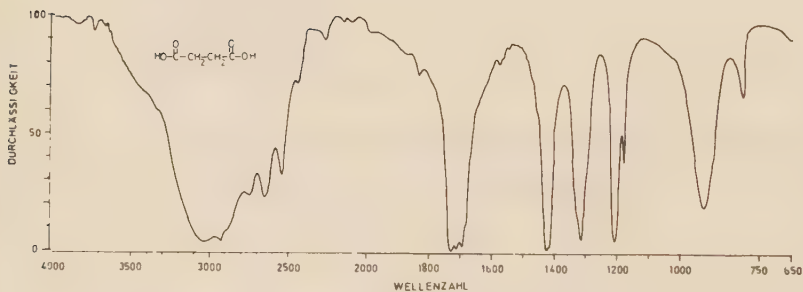


Abbildung 22: IR-Spektrum der Verbindung ÄAc-13

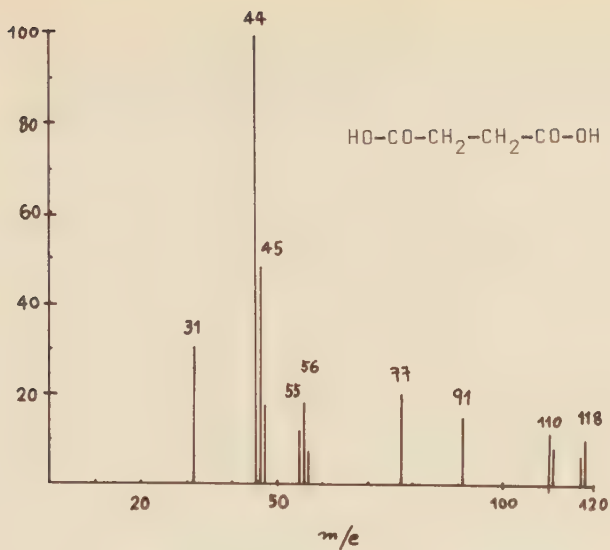


Abbildung 23: Massenspektrum der Verbindung ÄAc-13

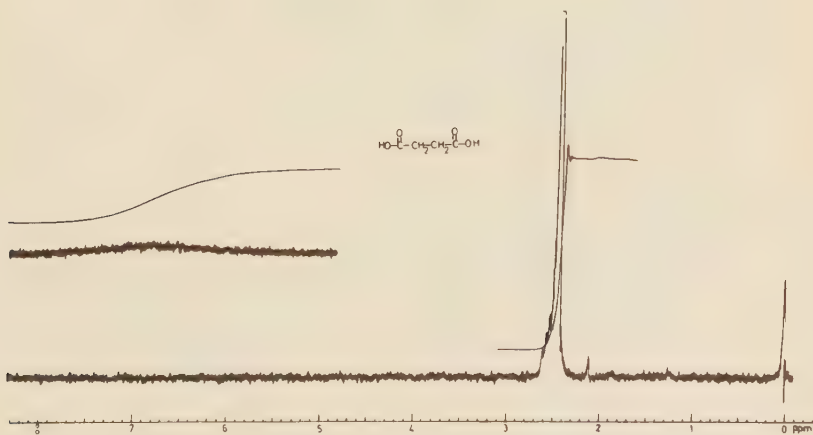


Abbildung 24: 60-MHz-NMR-Spektrum der Verbindung

ÄAc-13

Die Verbindung vom Schmp. $183-185^{\circ}$ hat gemäß CH-Analyse in Verbindung mit dem MS die Bruttoformel $C_4H_6O_4$. Alle spektralen Daten (MS, NMR, IR) weisen auf eine aliphatische Säure hin, die gemäß IR (Absorption bei $3000-2500$, $1730-1680\text{ cm}^{-1}$) an funktionellen Gruppen eine Hydroxy- und Carboxylgruppe tragen muß. Im NMR finden wir das für einen $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-$ Rest typische 4-Protonen-Singulett bei $\tau = 7,53$. Nach dem in der Literatur für Bernsteinsäure angegebenen Schmp. $183-185^{\circ}$ schien eine Identität der ÄAc-13 mit der Säure wahrscheinlich. Eine aus dem Handel bezogene authentische Probe zeigt im Mischschmelzpunkt mit ÄAc-13 keine Depression. Die IR-Spektren sind deckungsgleich (siehe IR-Überlagerungsspektrum Abb. 25).

ÄAc-13 : Schmp. $183-185^{\circ}\text{C}$

auth. Probe: Schmp. $183-185^{\circ}\text{C}$

Verreibung

der beiden : Schmp. $183-185^{\circ}$

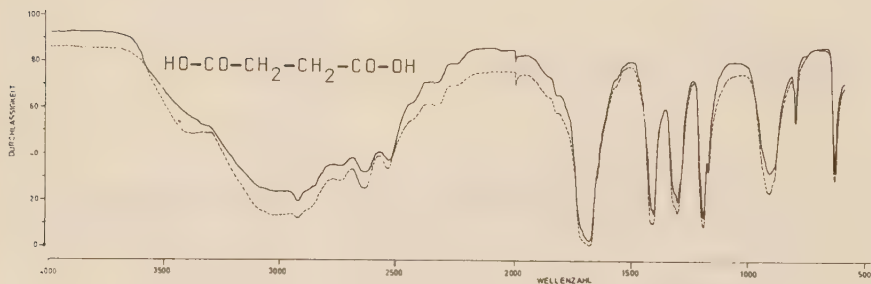


Abbildung 25: IR-Überlagerungsspektrum von ÄAc-13
und Bernsteinsäure

2.8. Halbquantitative Bestimmung der Haupt-Withanolide (Lyciumsubstanzen A und B)

Wie im Abschnitt 2.4.3. beschrieben, wurden die beiden Withanolide, nämlich Lyciumsubstanzen A und B, in den sehr geringen Mengen von nur jeweils 35 mg aus 5 kg Droge isoliert, d.h. die Substanzen wären in der äußerst geringen Konzentration von etwa $10^{-3}\%$ in der Droge enthalten. Es ist jedoch denkbar, daß im Verlauf der Isolierung große Verluste - beispielsweise durch das Ausschüttelverfahren - eintreten, daß mit anderen Worten der tatsächliche Gehalt wesentlich höher liegt. Nun ist aber für die Beurteilung eines möglichen pharmakologischen Effektes die Menge wichtig, in der potentielle Wirkstoffe zur Anwendung gelangen. Aus diesem Grunde wurde zur Abschätzung des Gehaltes der Droge an den beiden Withanoliden eine halbquantitative Bestimmung durchgeführt. Als einfaches Verfahren bot sich uns der Größenvergleich der erzeugten, angefärbten Flecke nach dünnschichtchromatographischer Trennung an. Die Methode besteht bekanntlich darin, den Drogenextrakt unmittelbar auf die DC-Platte aufzutragen, und nach Trennung und Anfärbung die Fleckengröße mit denen einer mitgelaufenen Vergleichslösung bekannten Gehaltes zu vergleichen.

Im einzelnen wurde folgendermaßen vorgegangen: Vergleichslösungen wurden bereitet durch Lösen von jeweils 1,0 mg Reinsubstanz, d.i. Lyciumsubstanz A (= V_A) bzw.

Lyciumsubstanz B (= V_B) in genau 1,0 ml Chloroform. Davon wurden jeweils 10, 20, 30 und 50 μ l auf die Startlinie aufgetragen. Die zu bestimmende Lösung (L) wurde wie folgt erhalten: 10 g der fein pulverisierten Blätter wurden fünfmal mit je 100 ml 80-%igem Methanol (20% Wasser) bei 60°C 30 Minuten lang unter Rückflußkühlung extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden auf insgesamt 200 ml eingeeengt und mit 200 ml Wasser verdünnt. Nunmehr wurde zehnmal mit je 100 ml Äther ausgeschüttelt (Scheidetrichter), die vereinigten Ätherlösung über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel i. Vak. befreit. Der Rückstand (1,2 g) wurde in Methanol ad 10 ml gelöst (=L). Steigende Mengen L (d.s. 10, 20, 30, 40 und 50 μ l) wurden auf die Platte, wie oben schon die Vergleichslösungen (V_A und V_B), aufgetragen (durch Ziehen von Strichen waren die einzelnen Substanzflecke getrennt) und chromatographiert. Chromatographiebedingungen: Standardbedingungen nach STAHL (1967), Kieselgel F Woelm DC (selbstgestrichene Platten, 0,25 mm); Fließmittel: Toluol-Äthylacetat (1 : 1; v/v); Laufhöhe 16 cm; Nachweis: durch Dragendorffs Reagens (Reagens Nr.89 in STAHL, 1967). Ergebnis: Bei $R_f = 0,38$ orangebraune Flecke ab der Konzentration 30 μ l L und bei $R_f = 0,25$ orangefarbene Flecke ab der Konzentration 50 μ l L. Der visuelle Vergleich ergibt:

50 μ l L bei $R_f = 0,25$ entspr. 10 μ l V_A

30 μ l L bei $R_f = 0,38$ entspr. 10 μ l V_B

Demnach enthalten 50 μ l L 10 μ g an Lyciumsubstanz A und 30 μ l L 10 μ g Lyciumsubstanz B. Eine einfache Rechnung ergibt dann, daß in 100 g Droge 20 mg der Substanz A und 33 mg der Substanz B enthalten sind. Endresultat: Gehalt der Lyciumblätter an Ly-A 0,02 % und an Ly-B 0,03 %.

Tabelle 11:

Inhaltsstoffe in 5 kg Droge	Berechnet gemäß halbquantitative DC	Isolierte Menge Reinstoff
Lyciumsubstanz A	1,0 g	0,035 g
Lyciumsubstanz B	1,0 g	0,035 g

Wie die Tabelle 11 zeigt, wurden aus der Droge wesentlich geringere Anteile in reiner kristalliner Form isoliert als ihrem tatsächlichen Gehalt entspricht. Das ist durchaus verständlich, da ja nicht gezielt von Anfang an nach den Withanoliden gesucht wurde, daher auch kein angepaßter, gezielter Analysengang gewählt werden konnte.

Um die volksmedizinische Verwendung der Droge, insbesondere als Antiphlogisticum, zu beurteilen - wie in Abschnitt 1.3.1. aufgeführt, weisen die Withanolide Wirkungen wie die antiphlogistischen Prednisolone auf -, ist es wichtig, sich eine Vorstellung darüber zu verschaffen, in welcher Dosis Withanolide eingenommen worden sind. Wenn wir davon ausgehen, daß pro Tasse Lyciumtee 5 g Blätter verwendet worden sind, dann errechnet sich eine Einzeldosis an Withanoliden von 2,5 mg. Nun fehlen zwar bisher Untersuchungen über wirksame Dosen am Menschen, ganz einfach

auch schon deswegen, weil bisher keine klinisch-pharmakologischen Untersuchungen der Withanolide durchgeführt wurden. Doch nach einer tierexperimentellen Studie von A. FÜGNER (1973) ist die Wirkung der Withanolide in bestimmten Entzündungstests (s. Seite 104, Abschnitt 3.1.3. dieser Arbeit) gleichwertig derjenigen der Glucocorticoide (vom Prednisolontyp). Die Wirksamkeit der wichtigen in der Humantherapie verwendeten Glucocorticoide ist zwar schwankend, aber die Dosierung (wirksame Einzeldosis) bewegt sich in den Grenzen von 1 mg für Dexamethason bis 25 mg für Cortison (H. KAISER, 1972). Unter der Voraussetzung vergleichbarer Wirkungsrelationen der echten Glucocorticoide und der glucocorticoidwirksamen Withanolide läßt sich der Schluß ziehen, daß pro Tasse Lycium-Tee eine wirksame Einzeldosis zugeführt werden kann.

3. Theoretischer Teil

3.1. Chemie und Biochemie der Withanolide

3.1.1. Allgemeines

Die Bezeichnung der Withanolide wurde zuerst von LAVIE vorgeschlagen (D. LAVIE, 1965), womit zum Ausdruck gebracht werden soll, daß es sich um Laktone handelt, die zum ersten Male aus Withania-Arten isoliert worden waren. Genauer betrachtet handelt es sich um Steroidlaktone. Erstmalig gelang es DHALLA et al. (1961) ein Withanolid in reiner Form zu isolieren. An der Konstitutionsaufklärung beteiligten sich mehrere Arbeitsgruppen insbesondere LAVIE et al. (1965), KUPCHAN et al. (1965) und TSCHESCHE et al. (1966). Withaferin A [6] ist das bekannteste Withanolid; insgesamt sind nunmehr über 30 Vertreter dieser Gruppe beschrieben. Vom chemotaxonomischen Standpunkt aus ist bemerkenswert, daß Vertreter bisher nur aus bestimmten Gattungen der Solanaceae isoliert wurden, genauer aus Gattungen der Unterfamilie Solaneae (Dunalia = Acnistus, Withania und Jaborosa; zur botanische Stellung siehe Abschnitt 1.1.). Biochemisch betrachtet handelt es sich bei den Withanoliden um modifizierte C_{28} -Steroide vom Typus des im Pflanzenreich weit verbreiteten Phytosterols (Campesterol [8]). Die Variation besteht darin, daß die C_9 -Seitenkette des Campesterols ([24R]-24-Methyl-5 α -cholestan-3 β -ol) so oxidiert ist (27-CH₃ $\rightarrow$ COOH und 22-CH₂ $\rightarrow$ CH-OH), daß sich ein sechsgliedriger Laktonring ausbilden kann. Nächste Verwandtschaft weisen somit die Witha-

nolide zu den Phytoecdysonen auf. Während aber bei den Phytoecdysonen auch Vertreter mit einer C_8 -Seitenkette (C_{27} -Phytoecdysone entsprechend dem Cholesterin) und solche mit einer C_{10} -Seitenkette (C_{29} -Phytoecdysone entsprechend dem Sitosterin) vorkommen, konnten bisher nur C_{28} -Withanolide gefunden werden. Bemerkenswert scheint es sodann, daß bis jetzt auch kein glykosidischer Vertreter - sehr wohl aber stark oxidierte Varianten (Physalin A, $C_{28}H_{30}O_{10}$) - gefunden wurde (R. HEGNAUER, 1973). Die biogenetische Stellung der Withanolide innerhalb der Pflanzen-Steroide ist in Abb. 26 angedeutet.

Ein Blick auf das Formelbild der Withanolide lehrt, daß sie relativ unpolar sind, wenn auch stärker polar als die typischen Phytosterine: man vergleiche beispielsweise das Withaferin A mit seinen sechs O-Funktionen mit dem Campesterol mit nur einer O-Funktion im Molekül. Demnach wird man erwarten können, daß sich die Withanolide mit lipophilen organischen Lösungsmitteln extrahieren lassen. Die Praxis zeigt, daß sich Phytosterine vom Typus des freien (nichtglykosidischen) Campesterols bereits mittels Petroläther dem Pflanzenmaterial entziehen lassen, die Withanolide erst mit Chloroform oder Äther. Zur Reindarstellung bzw. zur Einzeltrennung von Withanolid-Gemischen haben sich säulenchromatographische Verfahren sowohl an Kieselgel als auch an Aluminiumoxid bewährt. Was das Fließmittel anbelangt, so verwendet man beispielsweise Benzol-Äthylacetat-Gemische steigender Polarität (I. KIRSON

et al., 1971). Wie im Hauptteil beschrieben war im Falle der Lycium-Laktone eine einmalige Auftrennung zur Gewinnung der kristallinen Substanzen nicht ausreichend; die säulenchromatographisch getrennten Fraktionen mußten rechromatographiert werden, was mittels präparativer Dick-schichtchromatographie erfolgte.

Zum analytischen Verhalten: hier interessiert in erster Linie die Möglichkeit eines Nachweises mittels Sprühreagenzien, um den Verlauf der präparativen Trennungen analytisch verfolgen zu können. Die Withanolide verhalten sich natürlich wie typische Steroide und sollten sich daher mit den üblichen Steroidreagenzien anfärben lassen. Wir benutzten jedoch das einfach zu handhabende Dragendorffs Reagens. Der Laktonring bedingt, daß sich die Withanolide gegenüber Dragendorffs Reagens wie Alkaloide verhalten. Unseres Wissens haben erstmalig FURGIUELE et al. (1962) darauf hingewiesen, daß α -Pyrone mit Dragendorffs Reagens positiv reagieren, so das Kawain, das Dihydrokawain, das Methysticin und das Yangonin. So ist es verständlich, daß man an Hand des Dragendorffs Reagenses an Stelle vermuteter Alkaloide tatsächlich N-freie Laktone isoliert. Auch im Verlauf eigenen Untersuchens wurde ursprünglich gezielt nach Alkaloiden gesucht (siehe Seite 24). Bei Durchsicht der Literatur fanden wir bestätigt, daß sich die Withanolide gegenüber Dragendorffs Reagens wie Alkaloide verhalten (MENSSEN, 1973).

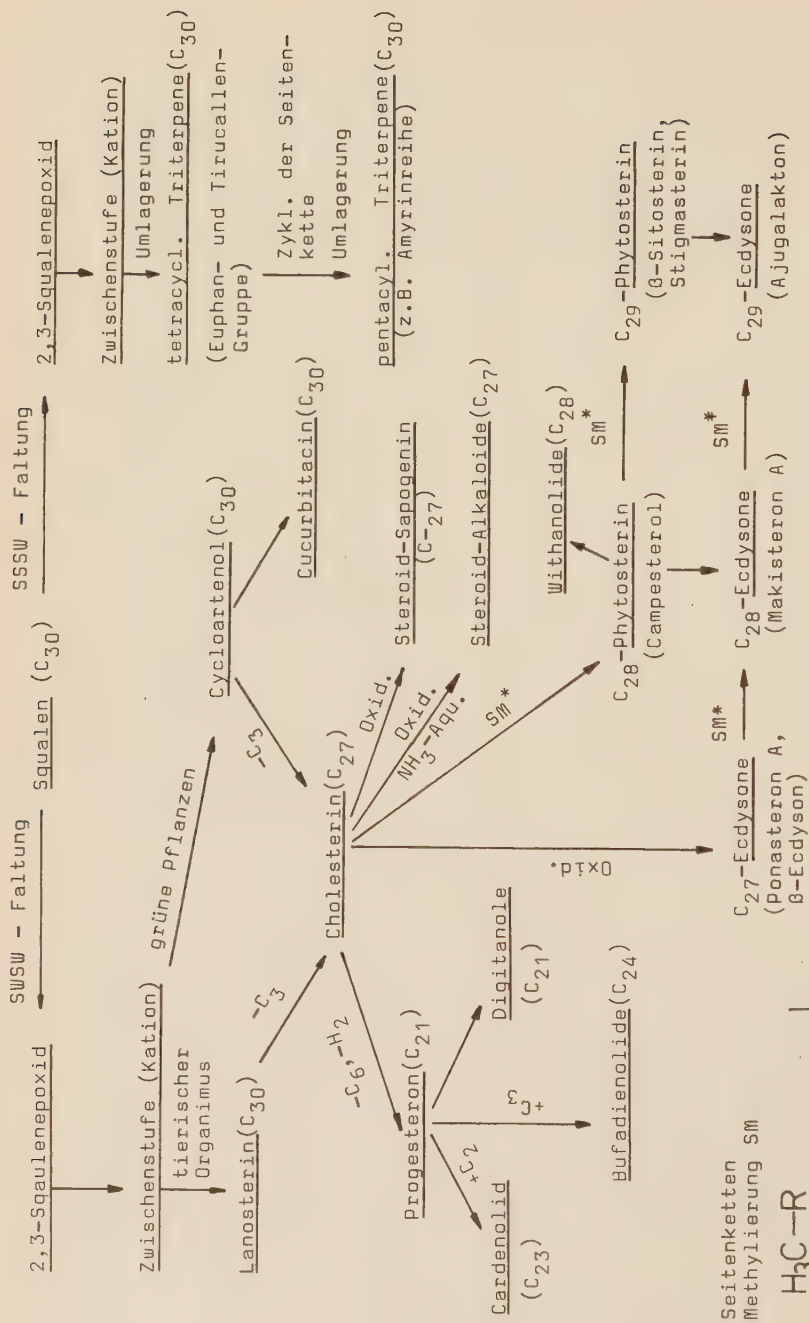
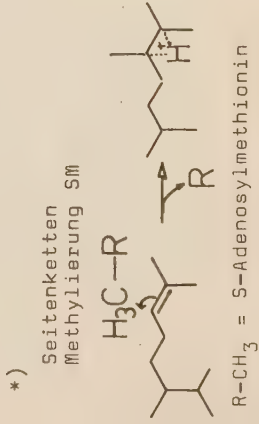
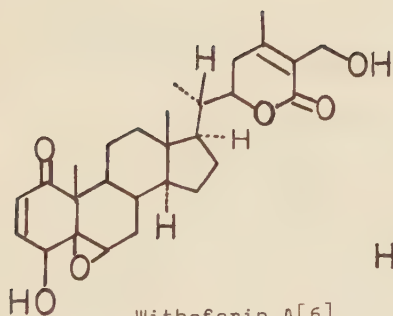
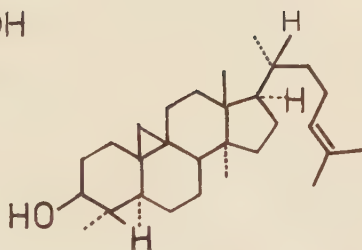


Abbildung 26 : Die biogenetische Beziehung der Withanolide der Cholesterin-Steroid-Reihe.

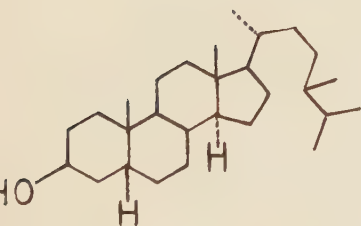




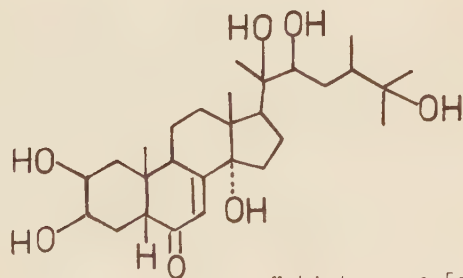
Withaferin A [6]



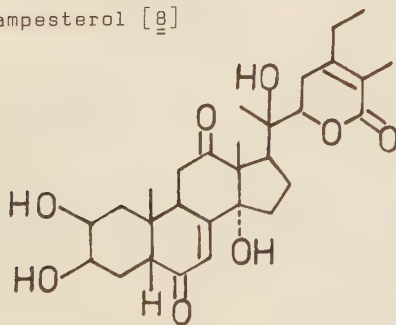
Cycloarterol [7]



Campesterol [8]



Makisteron A [9]



Ajugalakton [10]

3.1.2. Methoden der Konstitutionsaufklärung

3.1.2.1. Abbaumethoden

Auf die Abbaumethoden zur Konstitutionsaufklärung und auf die Methoden der Derivatisierung zur Lösung des Konfigurationsproblems wird im folgenden nur kurz eingegangen, da im Rahmen der eigenen Arbeit chemische Abbaumethoden nicht durchgeführt werden. Betrachten wir dazu das Withaferin A [6]: Es galt zu ermitteln 1.) das Grundgerüst und 2.) an funktionellen Gruppen den Laktonring, den Epoxidring, das Enonsystem und die Hydroxylfunktion.

Wie in der Terpen-Chemie üblich ergab sich das Steroidgrundgerüst durch Dehydrierung mit Selen, indem 17-Äthyl-16,17-dihydro-15H-cyclopenta[α]phenanthren nachgewiesen wurde. Daneben entstand Trimethylnaphthalin, ein Hinweis auf Vorliegen stark hydroxylierter Steroide; jedenfalls bisher wurde das zuletzt genannte Spaltprodukt nur bei den Cucurbitacinen gefunden (D.LAVIE, 1962).

Der chemische Nachweis des Laktonringes gestaltete sich insofern nicht ganz einfach, da sich überraschend das Lakton in basischem Milieu nicht in die korrespondierende Hydroxylcarbonsäure überführen ließ. Der Nachweis erfolgte mittels Ozonisierung: führte zu einem Hydroxylketon, das leicht Wasser abgibt (Abb. 27, D.LAVIE, 1965[Part III]).

Daß ein Epoxidring im Molekül enthalten ist, wurde erstens durch Überführung in ein Bromhydrin und zweitens durch säurekatalytische Umwandlung zum entsprechenden Diol bewiesen. Im Falle des Withaferin A ist eine der beiden α -Diolgruppen acetylierbar, was auf ihren sekundären Charakter zurückschließen läßt.

Die zweite, nicht acetylierbare OH ist tertiärer Natur. Oxidation von Withaferin A mit Mangan-dioxid führt zu einem Derivat, welches UV-spektroskopisch ein En-Dion-System enthalten muß, das nach der Sachlage (Steroidgerüst) nur im Ring A unterzubringen ist (= Δ^2 -1,4-Dioxosystem, D.LAVIE, 1965 [Part IV]).

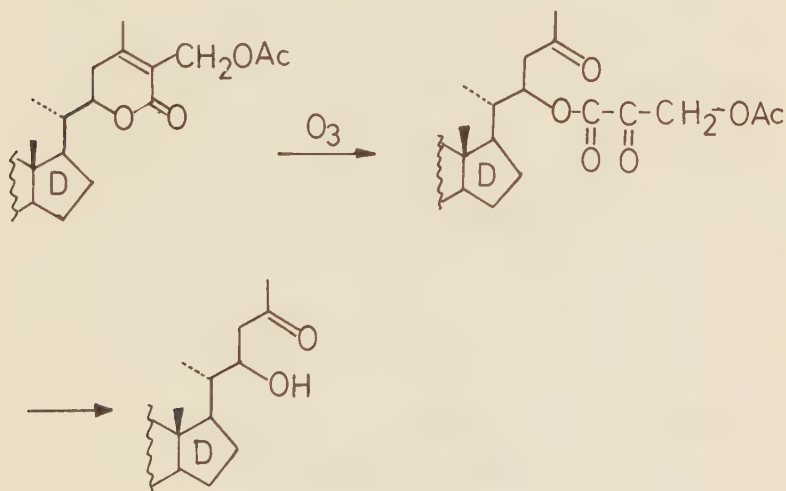
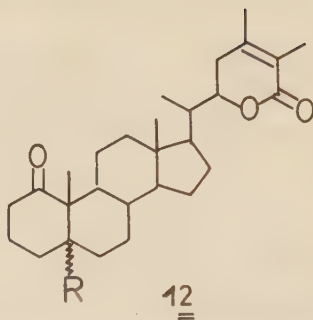
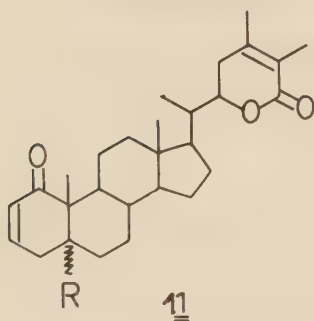


Abbildung 27: Abbauschema des Laktonringes

3.1.2.2. Chemisch-physikalische Methoden

3.1.2.2.1. CD der Withanolide



Die Withanolide sind - sofern Grundstruktur 11 vorliegt - dadurch charakterisiert, daß sie zwei chromophore Systeme im Molekül enthalten: einmal das transoide 2-En-1-on-System im Ring A mit den Absorptionsmaxima der $n - \pi^*$ -Bande (R-Bande) bei ~ 350 nm und der $\pi - \pi^*$ -Bande (K-Bande) zwischen 230-260 nm, sodann das Pentenolid-System (den Laktontoring an C-20) mit den entsprechenden Absorptionen bei 240-250 nm bzw. bei 217 nm (siehe die Tabelle 12).

	Lakton	Enon
R-Bande	240-250 nm	350 nm
K-Bande	217 nm	230-260 nm

Tabelle 12: Absorptionen der Enon- und Laktonsystemen der Withanolide

Betrachten wir zunächst die $n \rightarrow \pi^*$ -Bande bzw. die CD-Charakteristik bei ~ 350 nm, aus der sich Rückschlüsse auf die Verknüpfung der Ringe A und B ziehen lassen, d.h. darauf, ob A/B-cis- oder A/B-trans-Konfiguration vorliegt. Die Ableitung der Stereochemie kann sich dabei auf eine empirische Regel stützen. MOFFIT und Mitarbeiter (1961; siehe insbesondere auch C. DJERASSI, 1960) haben aus Messungen der optischen Rotationsdispersionen vieler Modellsubstanzen herausgefunden, daß 1-Keto-A/B-cis-Steroide von Typus 16 einen stark negativen Cotton-Effekt aufweisen, während die epimeren A/B-trans-Derivate [14] sehr kleine Cotton-Effekte zeigen. Bei dem bekannten Zusammenhang zwischen der optischen Rotationsdispersion und dem Circulardichroismus (W.KLYNE, 1967) bedeutet das, daß die 2,3-Dihydro-Derivate einen stark negativen CD aufweisen, sofern die Ringe A/B cis verknüpft sind, hingegen einen nach Null tendierenden Wert bei Transverknüpfung der Ringe. Da sich die Withanolide des Typus 13 bzw. 15 leicht hydrieren lassen, kann man aus den CD-Werten der Hydrierungsprodukte auf deren Stereochemie schließen (siehe hierzu die Tabelle 13).

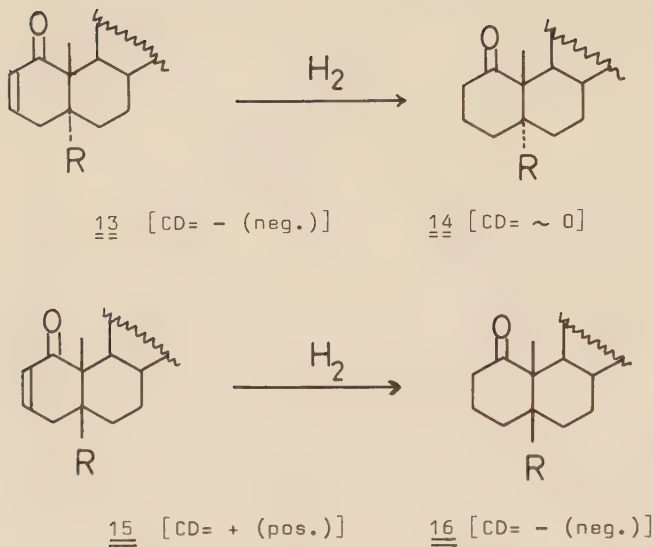


Tabelle 13: Vorzeichen des CD im Bereich der

$n - \pi^*$ (R-Bande) bei $\sim 350 \text{ nm}$

Was nun den CD des Laktonringes anbelangt, so kann man sich ebenfalls auf sehr umfangreiches empirisches Material stützen (s. Tab. 14), das in der Oktanten-Regel von G. SNATZKE (1968) zusammengefaßt ist. Ohne auf Einzelheiten dieser Regel einzugehen, sei auf die Übereinstimmung von Vorhersage nach der Oktanten-Regel und Bestimmung der absoluten Konfiguration auf chemischem Wege für den Fall der (+)-Parasorbinsäure [17] hingewiesen (J. LUKES, 1962). In beiden Fällen wird für 17 die (25)-Konfiguration nach der CAHN-INGOLD-PRELOG-Bezeichnung

(CAHN, 1966) gefunden. Für die Anwendung der Regel auf andere Laktone (Pentanolide) ist gleichbleibende Konformation Voraussetzung. Für die Withanolide darf man sinnvollerweise annehmen, daß ebenfalls der große Substituent am Dihydro- α -Pyrone (das ist der Steroidteil) äquatoriale Konformation einnimmt. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß die Regel sich auch im Bereich der Kawalaktone bewährt hat (G.SNATZKE und R.HÄNSEL, 1968). Nun ist allerdings im Falle der Withanolide nicht von vorn herein sicher, ob die für die Anwendung der Oktantenregel entscheidende $n - \pi^*$ (R-Bande), im Spektrum sich sicher zuordnen läßt, denn im gleichen Bereich kommt die $\pi - \pi^*$ (K-Bande) des Enonsystems zu liegen. Wir verdanken es ebenfalls den Arbeiten von G.SNATZKE (1967), der dieses Problem löste. Durch Reduktion wurde der Enonchromophor ausgeschaltet. Ein Vergleich der CD-Kurven vor und nach Reduktion (siehe Abb. 28) zeigt, daß entgegen der Befürchtung in der Ausgangsverbindung alle drei Banden des Messbereiches 220-370 nm klar voneinander getrennt liegen. Mit anderen Worten: es läßt sich in den CD-Kurven der Dehydro-Derivate vom Typus 18 die R-Bande bei etwa 260 nm isoliert erkennen, woraus die Chiralität am C-22 erschlossen werden kann (G.SNATZKE, 1967). Bedeutsam ist, daß für den Fall der Verbindung Withaferin A [6]unabhängig von CD die (22R)-Konfiguration ermittelt werden konnte, und zwar in unangreifbarer Weise durch Röntgenstrukturanalyse (A.MCPHAIL, 1968). Die Röntgenstrukturanalyse erwies sich insofern zusätzlich

als wichtig, als die Konformation des α,β -ungesättigten Laktonringes geklärt werden konnte. Wie oben erwähnt war zur Interpretation der CD-Kurven Vorliegen einer mit der Parasorbinsäure[17] identischen Konfiguration postuliert worden. Diese Annahme wurde bestätigt, und zwar liegen die Kohlenstoff-Atome C-23, C-24, C-25, C-26 und das heterozyklische O in einer Ebene mit Ausnahme des C-22, das etwa 0,5 Å über der Ebene der anderen Ringatome liegt ("envelop"-Form des Laktonringes).

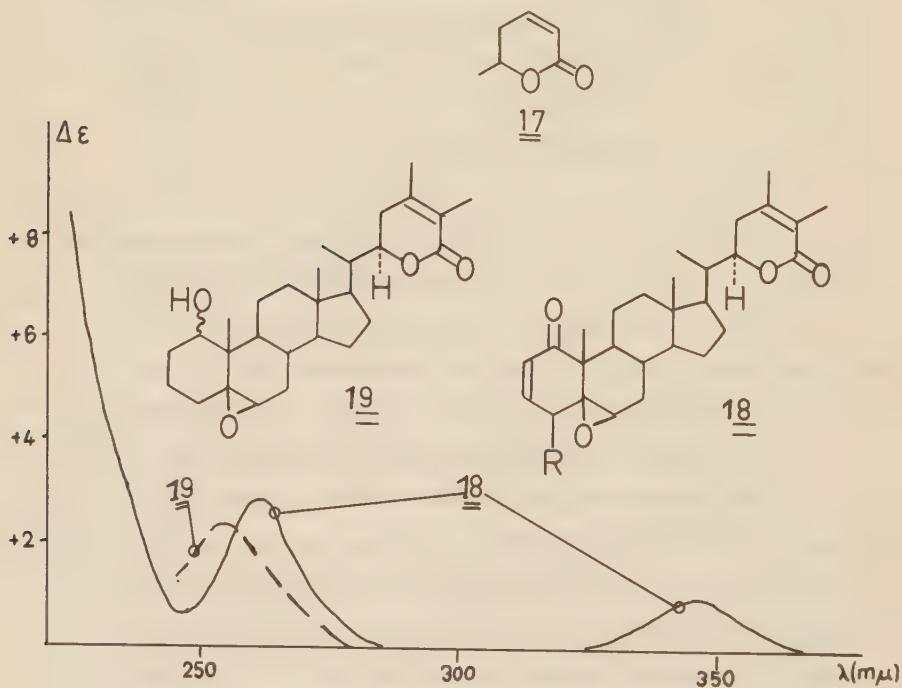
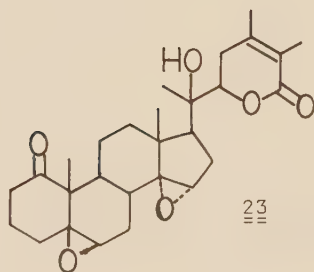
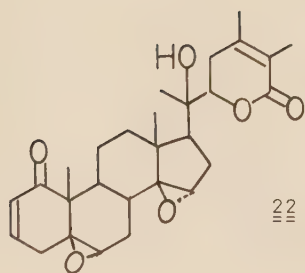
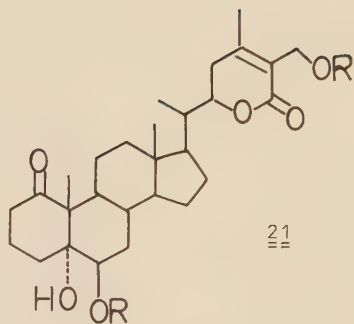
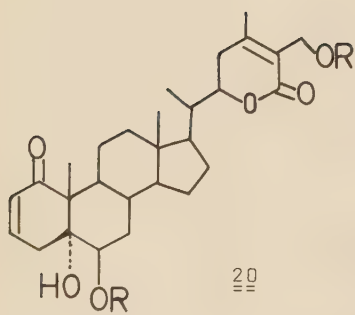
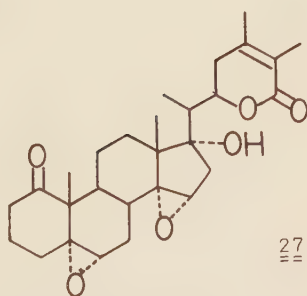
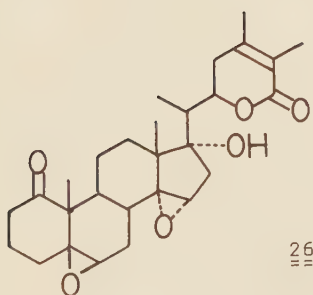
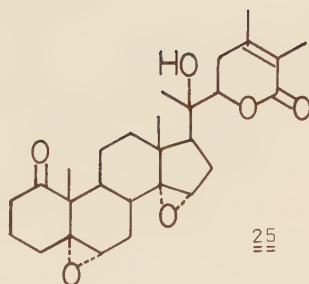
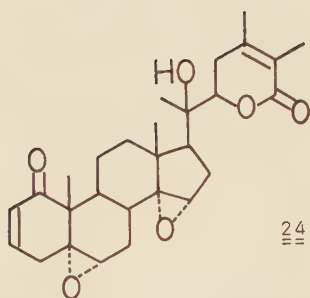


Abbildung 28: CD der Verbindungen 18 und 19 (in Dioxan).
Entnommen: G. SNATZKE (in R. BONNETT, 1967),
verändert.

Tabelle 14: Typische CD-Beispiele der Withanolide

Verbindungen	CD-Werte	Literatur
<u>20</u>	385 (0) 340 (-1,66) A/B-trans 293 (0) 260 (+3,04) Laktonring	TSCHESCHE, 1968
<u>21</u>	310 (0) 257 (+2,43)	"
<u>22</u>	380 (0) 355 (+0,86) 315 (0) 300 (-0,56) 278 (0) 251 (+3,86)	GLOTTER, 1973
<u>23</u>	330 (0) 294 (-3,37) 250 (+4,94) 200 (+12,6)	"
<u>24</u>	368 (0) 335 (-0,74) 303i (-0,16) 290 (0) 250 (+3,77)	"
<u>25</u>	329 (0) 291i (+0,67) 251 (+4,39) 200 (+10,1)	"
<u>26</u>	331 (0) 294 (-3,41) 255 (+5,01)	"
<u>27</u>	331 (0) 289 (+0,65) 254 (+4,95)	"





3.1.2.2.2. Ultraviolett-Spektroskopie

Gerade für die Steroide liegt ein sehr umfangreiches Material vor, zusammengefaßt zu den sogenannten Woodward-Regeln. Betrachten wir den Grundkörper der Withanolide [11], so erkennen wir drei isoliert voneinander stehende Chromophore:

- (1) den Epoxidring
- (2) den Butenolidring (α,β -ungesätt. Lakton)
- (3) das s-trans Enonsystem im Ring A

Chromophor (1), d.i. der Epoxidteil, kann vernachlässigt werden, da er nicht in Konjugation mit einem anderen Chromophor steht, nur in diesem Falle wäre er wie eine hypsochrom verschobene Doppelbindung zu werten. Für den Chromophor (2), den α,β -ungesättigten Laktonring, gibt die Parasorbinsäure[17] ein gutes Modell ab mit einem Maximum bei 205 nm und einer Höhe der Bande von $\log \epsilon = 4,03$ (EISNER, 1953). Allerdings müssen Inkremente für die beiden Methylsubstituenten berücksichtigt werden. Nimmt man diese Regeln im vorliegenden Falle als gültig an, dann errechnet sich — das Inkrement für zwei Alkylsubstituenten beträgt 10 nm — ein $\lambda_{\max}$ bei 215 nm (siehe Tabelle 15).

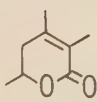
Verbindungen	$\lambda_{\max}$
 ₂₈	215 nm (berechnet)
 ₁₇	205 nm ($\log \epsilon = 4,03$)

Tabelle 15

Für den Chromphor (3) errechnet sich nach den Woodward-Regeln ein $\lambda_{\max}$ bei 227 nm: Enon-Grundchromophor 215 nm plus Monoalkylsubstituent in β -Stellung (+12 nm). Das tatsächliche Spektrum eines Withanolides stellt demnach ein Überlagerungsspektrum der beiden isolierten Chromophore (2) und (3) dar. Im Falle, daß die ϵ -Werte gleich wären, würde sich ein mittlerer $\lambda_{\max}$ -Wert bei 221 nm einstellen (siehe Abb. 29). Die Abbildung 30 zeigt einige beobachtete Werte.

Diese Abbildung zeigt, daß die experimentellen Werte zwar im Mittel einigermaßen mit den errechneten übereinstimmen, daß andererseits auffallende Schwankungen zwischen A/B-cis-verknüpften und A/B-trans-verknüpften Naturstoffen (vergleiche 32 mit 33) vorhanden sind. Die plausibelste Erklärung ist die Annahme eines Zusammenhanges zwischen der Stereochemie der Ringverknüpfung und der UV-Enonabsorption. In Dreidingmodellen erkennt man, daß bei trans-Verknüpfung die Carbonylgruppe weniger stark gegenüber der olefinischen Bindung verdreht ist, als im Falle der cis-Verknüpfung. Es resultiert im zuletzt genannten Falle eine für ein Enon wesentlich kurzwelligere Absorption. Während in der Literatur (M.KRAFT, 1975) für trans-Anordnung 222 nm angegeben wird – gegenüber den berechneten Werten von 227 nm –, absorbieren cis-Derivate bei 214 nm, wie die Beispiele 29 und 30 zeigen (s.Tab. 16). Mit diesem Stereoeffekt muß es wohl auch zusammenhängen, daß bei Wegfall des Laktonchromophors (durch Hydrieren der Δ^2 -Doppelbindung) das UV-Spektrum nicht wie erwartet bathochrom, sondern hypsochrom verschoben wird (s. Abb. 29 und 30).

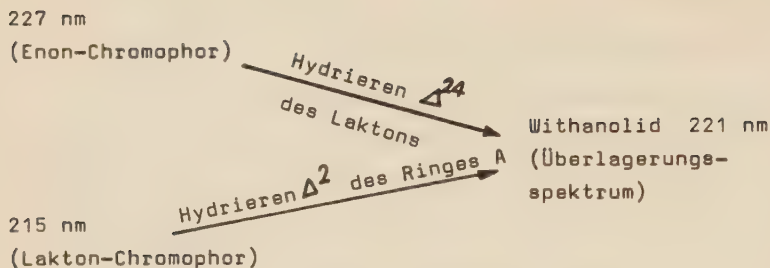


Abbildung 29: Theoretisch erwartete Absorptionen der
Withanolide und partiell hydrierter Derivate.

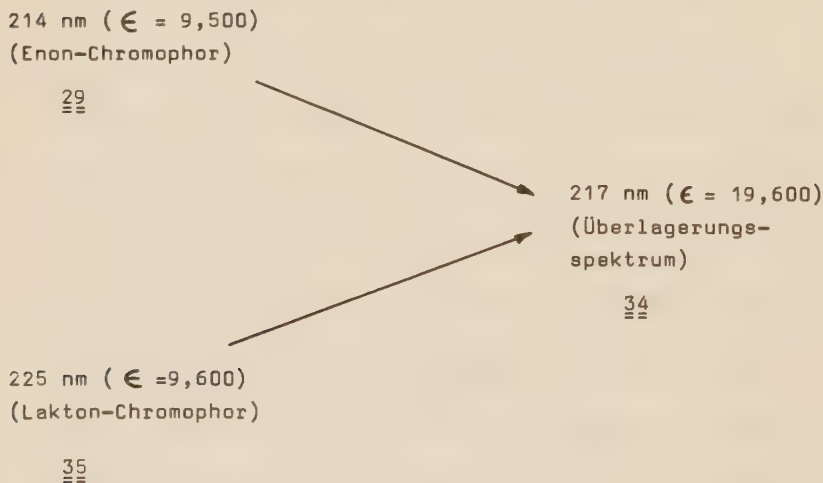
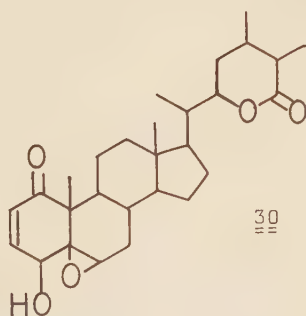
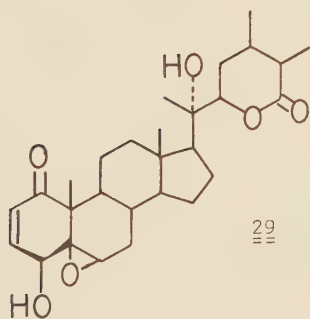
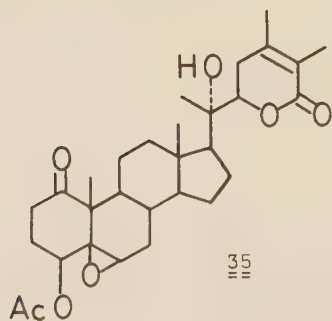
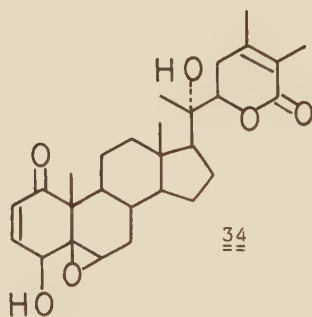
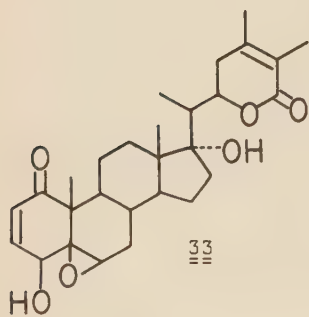
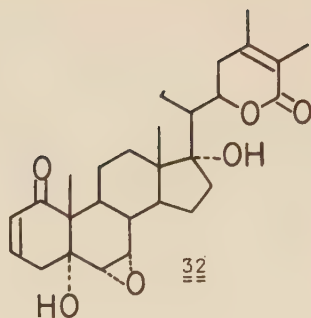
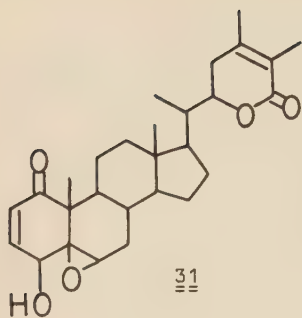


Abbildung 30: Experimentell ermittelte Absorptionen der
Withanolide und partiell hydrierter Derivate.

Tabelle 16 : UV-Absorptionen der Enon- und Lakton-
Chromophore der Withanolide.

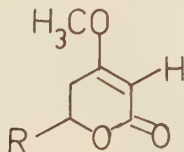
Verbindungen	$\lambda_{\max}$	Literatur
<u>29</u>	214 nm ($\epsilon = 9,500$)	I.KIRSON, 1970
<u>30</u>	214 nm ($\epsilon = 9,550$)	"
<u>31</u>	215 nm ($\epsilon = 17,500$)	"
<u>32</u>	223 nm ($\epsilon = 17,000$)	I.KIRSON, 1971
<u>33</u>	218 nm ($\epsilon = 16,100$)	"
<u>34</u>	217 nm ($\epsilon = 19,600$)	D.LAVIE, 1968
<u>35</u>	225 nm ($\epsilon = 9,600$)	"





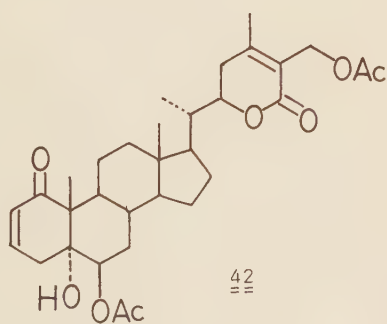
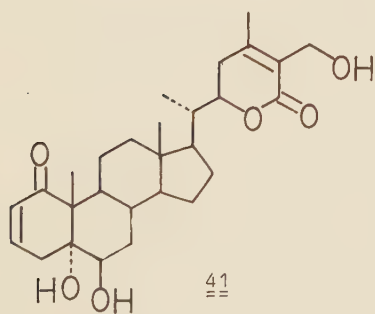
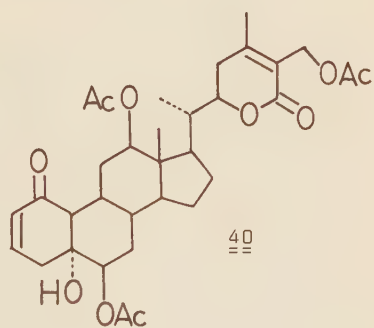
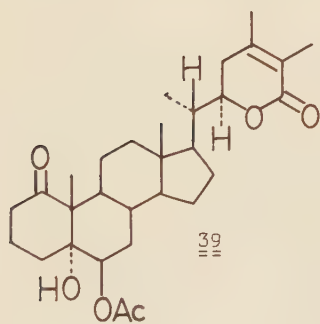
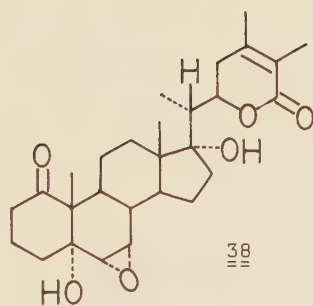
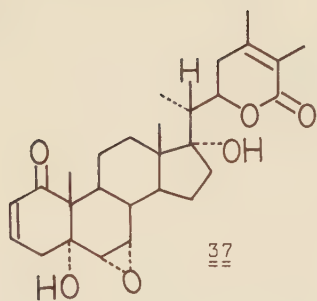
3.1.2.2.3. IR-Spektren

Ähnlich wie bei anderen Naturstoffgruppen werden auch die IR-Spektren der Steroide hauptsächlich zum Nachweis funktioneller Gruppen herangezogen. In speziellen Fällen können freilich auch Rückschlüsse auf die Stereochemie bestimmter funktioneller Gruppen (OH oder O-Acetyl: ob α - oder β -ständig) gezogen werden. Um gleich zu den Withanoliden zu kommen: es gilt die Bandenzuordnungen zu finden, einmal für das Enonsystem im Ring A, sodann für das Enolidsystem und (gegebenfalls) für das 20-Hydroxyl. Ungesättigte Laktonringe absorbieren im Bereich von 1690 bis 1705 cm^{-1} (36, R. HÄNSEL, 1966) und 1710 cm^{-1} (F.KORTE, 1959), das Enonsystem bei $1665\text{--}1685\text{ cm}^{-1}$ (L.J.BELLAMY, 1966). Die Tabelle 17 bringt die entsprechenden Werte für einige Withanolide. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die charakteristischen Withanolide in IR-Spektren sonach zwei scharfe Peaks im Carbonylbereich aufweisen.



Substanzen (IR medium)	Enon (Ring A)	Enolid (Lakton)	Literatur
37 (CHCl ₃)	1695 cm ⁻¹	1695 cm ⁻¹	KIRSON, 1971
38 (CHCl ₃)	1695 cm ⁻¹	1709 cm ⁻¹	"
39 (CHCl ₃)	1695 cm ⁻¹	1695 cm ⁻¹	TSCHESCHE, 1972
40 (CHCl ₃)	1680 cm ⁻¹	1705 cm ⁻¹	"
41 (KBr)	1670 cm ⁻¹	1695 cm ⁻¹	TSCHESCHE, 1968
42 (CHCl ₃)	1690 cm ⁻¹	1710 cm ⁻¹	"

Tabelle 17 : IR-Absorptionen des Enon- und Enolidsystems
einiger Withanolide.



Der Erwartungsbereich der Hydroxylfunktion ist bekanntlich der Bereich zwischen 3450 und 3650 cm^{-1} . Eine besondere Interpretationsschwierigkeit ergibt sich aus den Angaben von H.G. MENSSEN (1973). Die Verbindung 5,20 α -Dihydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-witha-2,24'-dienolid mit zwei Hydroxylgruppen, nämlich der 5-OH und der 20-OH, zeigt zwei OH-Banden bei 3420 und 3595 cm^{-1} . MENSSEN und STABEL (1973) nehmen eine Zuordnung dergestalt vor, daß sie die von der 20-OH herrührende Absorption der Bande bei 3420 cm^{-1} zuordnen mit der Begründung des Vorliegens einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem 20-Hydroxyl und dem Laktonsauerstoff. Wenn diese Zuordnung richtig wäre, so müßte bei unserer Lyciumsubstanz B [5], bei der es sich ja um das 20-Desoxy-Analoge handelt, eben diese Bande bei 3420 cm^{-1} fehlen, und die unchelatisierte 5-OH Bande bei 3595 cm^{-1} auftreten. Wie im Abschnitt 2.6.3. (Seite 43) angegeben, trifft aber tatsächlich das Gegenteil zu: es ist eine Bande bei tieferer Frequenz vorhanden. Die naheliegende Deutung besteht darin, daß es sich im Gegensatz zu der Vermerkung von MENSSEN und STABEL (1973) nicht um eine intra- sondern eine intermolekulare Wasserstoffbrücke handelt. Leider konnte diese Annahme in Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht verifiziert werden, da die für eine Aufnahme der Spektren in unpolaren Lösungsmitteln erforderliche Substanzmenge nicht zur Verfügung stand.

3.1.2.2.4. NMR-Spektren

Nach NEUDERT und RÖPKE (1965) ist es zweckmäßig, bei der Interpretation von Steroid-Spektren allgemein vier Gruppen von Protonen-Resonanzsignalen zu unterscheiden:

- 1) Ein breiter Komplex von sich überlagernden Resonanzen der Methylengruppen des Steroidgerüsts im Bereich von etwa $\tau = 8,0$ bis $9,3$ ppm.
- 2) Signale von einzelnen Protonen des Gerüsts, die infolge des Einflusses von Substituenten (besonders von O-Substituenten), aber auch von Doppelbindungen aus dem CH_2 -Komplex heraus verschoben werden.
- 3) Die Resonanzen der angulären (C-18 und C-19) und der anderen Methylgruppen.
- 4) Resonanzsignale der Substituenten.

Wenden wir dieses Schema für den Fall der Withanolide an, so läßt sich folgendes aussagen: Ad 1) Wie bei allen üblichen Steroiden findet man erwartungsgemäß im Bereich $\tau = 7,3$ bis $9,3$ (JACKMANN, 1965) einen breiten Bereich sich überlagernder Signalgruppen herrührend von den Methylen- und Methinprotonen der alicyclischen Ringe.

Diese Signale liefern — es sei denn unter Heranziehung spezieller Techniken wie Zugabe des paramagnetischen Dipyridin-Adduktes von Tris-[dipivalomethanato]-europium (III), $\text{Eu(DPM)}_3\text{Pyr}$ (K.J. EISENTRAUT, 1965) — kaum Information über Konstitution und Stereochemie. Die Form der Umhüllenden dieser Signalgruppen reagiert jedoch sehr empfindlich auf eine Veränderung der Konstitution bzw. Konfiguration: beim Vergleich einer neu isolierten Verbindung mit einer Referenzprobe bekannter Konstitution (Identitätsprüfung) kann diese Umhüllende (ähnlich wie im IR der sogenannten "Fingerprint-Bereich") Identität oder Nichtidentität der beiden Proben sichern helfen.

Ad 2) Deutliche Verschiebungen in den Bereich außerhalb des CH_2 -Komplexes erfahren die Signale derjenigen Gerüst-Protonen, die an einem C-Atom mit einer Doppelbindung (olefinische und aromatische CH-Gruppe) oder an einem C-Atom mit einem O-Substituenten in Nachbarschaft stehen. Im Falle der Withanolide handelt es sich in der Mehrzahl der Fälle um zwei olefinische Protonen im Bereich $\tau = 3$ bis 4 ppm (I.KIRSON, 1971), sowie um ein H oder um zwei Protonen im Bereich $\tau = 6,5$ bis 7 ppm (I.KIRSON, 1971), die auf Signale des Epoxydringes zurückgehen (hierzu siehe Formel 6). Über Lage und Multiplizität des für viele Withanolide so charakteristischen Δ^2 -1,4-Oxo-hydroxy-Systems orientiert die nachstehende Abbildung 31 (D.LAVIE, 1965 [Part III]). 5,6-Epoxy-Derivate sind gekennzeichnet durch

das 6-H-Dublett bei $\tau = 6,8$. Im Falle von 6,7-Epoxy-Derivaten — dazu gehören die Lyciumsubstanzen A und B — finden wir beispielsweise bei 4, d.i. 5,20 α -Dihydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-witha-2,24-dienolid, Signale bei $\tau = 6,95$ (d, 6-H) und $\tau = 6,67$ (dd, 7-H) (MENSSEN, 1973).

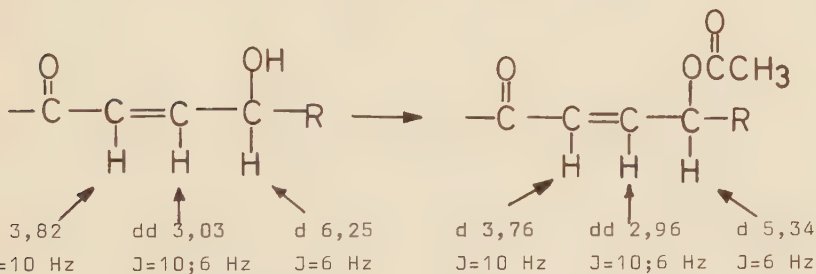


Abbildung 31: Lage und Multiplizität des für viele Withanolide charakteristischen Δ^2 -1,4-Oxo-hydroxy-Systems nach D. LAVIE (1965)

Ad 3) Sehr deutliche und charakteristische Signale in Form von 3-Protonen-Singulets rühren von Resonanzen der angulären Methylgruppen 18-CH₃ und 19-CH₃ her. Die chemische Verschiebung dieser beiden Signale hängt natürlich von den Substituenten in der Nachbarschaft ab, wobei sich selbst Einflüsse über größere Entfernungen hin auswirken. Gerade über die Frequenzlage dieser kernständigen Methylgruppen in Abhängigkeit von Art und Lage anderer funktioneller Gruppen im Molekül liegt ein außerordentlich umfangreiches Erfahrungsmaterial vor, beginnend mit den Arbeiten von

SHOOLEY und ROGERS (1958), dann ergänzt und tabelliert von ZÜRCHER (1961 und 1963). Das Wesentliche dabei ist: es läßt sich die chemische Verschiebung der 18-CH₃ und die der 19-CH₃ in substituierten Steroiden aus Beträgen berechnen, die sich rein additiv aus Einzelinkrementen zusammensetzen (Näheres siehe beispielsweise M. KRAFT, 1975).

Im Zusammenhang mit den Withanoliden ist die Arbeit von D.LAVIE(1967) von besonderem Interesse. Diese Autoren haben erneut 131 Steroide vermessen und die chemischen Verschiebungen der angulären Methylgruppen tabelliert, und zwar unter Einschluß und besonderer Berücksichtigung der Withanolide. Es gelang auf diese Weise die Ringverknüpfung der Ringe A/B – ob cis oder trans – NMR-spektroskopisch zu verifizieren, nachdem ORD und chemische Methoden diese Stereochemie der Ringverknüpfung geklärt hatten. Seitdem alle Methoden übereinstimmen, kann man nunmehr in einfacher Weise die NMR-Signale der 19-CH₃ zu Klärung dieser Ringverknüpfung benutzen (siehe Tab. 18). In der Praxis wird man zusätzlich und wohl zuverlässiger Lösungsmittel-Verschiebungen zu Klärung der Stereochemie heranziehen. Die entsprechenden Untersuchungen verdanken wir E. GLOTTER und Mitarbeiter (1970).

4-H	5-H	18-H	19-H	Literatur
Keton	α -H	9,35	9,26	D.LAVIE, 1967
Keton	β -H	9,35	8,88	"

Tabelle 18: NMR-Signale der 18-H und 19-H der
Cholestan-Derivate.

Ad 4) Von Substituenten am Steroidgerüst kommen in erster Linie in Frage weitere CH- und CH₃-Resonanzen, auch CH₂-Gruppen, wobei sich diese Substituenten in Nachbarschaft von O- oder Mehrfachbindungen finden können. Gehen wir sogleich zu den Withanoliden über: wir haben hier zunächst einmal drei weitere Signale von CH₃-Resonanzen: zwei 3-Protonen-Singulettts bei relativ tiefem Feld, das sind die beiden Methyle an der Enolid-Doppelbindung, und sodann ein variierendes — sowohl der chemischen Verschiebung als auch der Multiplizität nach — Signal der 21-CH₃. Die erwähnte Variabilität wurde im Falle unserer Lyciumsubstanz A zum Strukturbeweis herangezogen (siehe Abbildung 32). In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß der OH-Substituent an C-20 einen deutlichen Einfluß auf die chemische Verschiebung der 18-CH₃ ausübt. Das Inkrement errechnet sich als 0,16 ppm durch Vergleich der Substanz 5,20 α -Dihydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-witha-2,24-dienolid und ihres Desoxy-Derivates 5 α -Hydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-witha-2,24-dienolid (siehe Tab. 19).

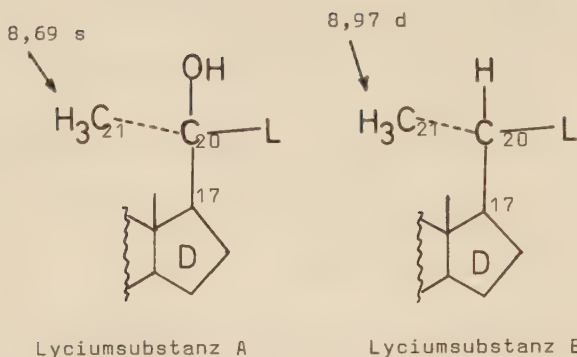
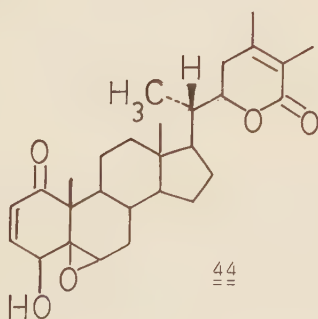
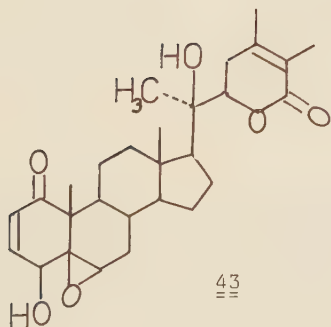
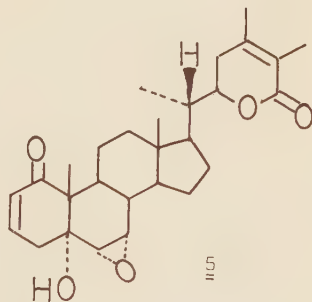
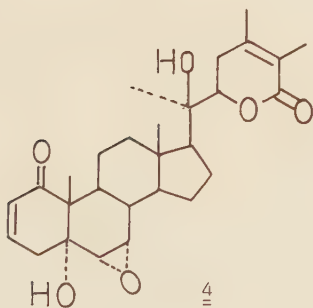


Abbildung 32: NMR-Signale der 21-CH₃ der Lycium-
substanzen A und B

Substanzen	18-CH ₃	Substitution am C-20	Literatur
Lyciumsubstanz A[<u>4</u>]	9,06 s	OH	eigene Arbeit
Lyciumsubstanz B[<u>5</u>]	9,22 s	H	"
Formel <u>43</u>	9,15 s	OH	LAVIE, 1968
Formel <u>44</u>	9,32 s	H	"

Tabelle 19: Chemische Verschiebung der 18-CH₃ der Witha-
nolide durch den Einfluß des OH-Substituenten
am C-20.

Zu den Signalen des Laktonsubstituenten zurück-
kehrend: Wir erwarten auf Grund des chemisch gesicherten
Pentenolidringes im NMR Signale für ein Methin- und zwei
Methylen-Protonen. Das Methinproton taucht erwartungs-
gemäß bei $\tau = 5,8$ bis $5,3$ ppm als Doppeldublett auf. Die
Methylenprotonen des Laktonringes sind unter den ent-
sprechenden Signalen des Steroidgerüsts versteckt.



3.1.2.2.5. Massenspektren

Wie bei anderen Naturstoffklassen liegt zunächst einmal der große Fortschritt, den die Massenspektroskopie gebracht hat, darin, selbst mit kleinsten Substanzmengen, ja selbst mit nicht ganz reinen Proben, Molekulargewicht und — sofern Möglichkeit zu Aufnahme hochauflösender MS besteht — die Bruttoformel zu ermitteln. Um den Zerfall der Withanolide sinnvoll diskutieren zu können, ist es angebracht, zunächst den allgemeinen Fall der Steroid-Fragmentierung zu rekapitulieren (SPITELLER, 1966; DJERASSI, 1969).

In Abwesenheit funktioneller Gruppen werden die Hauptspaltprodukte durch Sprengung der von quartären Kohlenstoffatomen ausgehenden Bindungen gebildet (siehe Formel 45) und zwar geordnet in der Reihenfolge sinkender Bedeutung: die Spaltungen B (C-13 $\frac{1}{2}$ C-17), D (C-14 $\frac{1}{2}$ C-15), A (C-10 $\frac{3}{4}$ C-9), F (C-5 $\frac{3}{4}$ C-6), E (C-6 $\frac{3}{4}$ C-7) und C (C-15 $\frac{3}{4}$ C-16). Die Eliminierung einer angulären Methylgruppe führt zu den entsprechenden um die Masse 15 verminderten Fragmenten.

Dabei müssen jeweils mindestens zwei Bindungen der Sorte A bis F gespalten werden, um die aus den Ringen stammenden Fragmente, die dann geradzahlig sind, zu erhalten. Zwei derartige Spaltungen werden im folgenden der

Einfachheit halber durch ein einziges Symbol (z.B. a) ausgedrückt. Die Bruchstückbildung zeigt Formel 46. An zwei Beispielen soll diese Darstellung der Steroid-Fragmentierung gezeigt werden, die den Vorteil hat, daß keine theoretischen Annahmen mechanistischer Art und bezüglich der Konstitution der entsprechenden Fragmente gemacht werden müssen. Dabei beschränken wir uns auf das Auftreten der geradzahligen Fragmente (Tabelle 20).

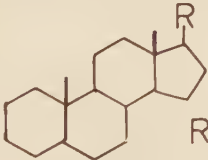
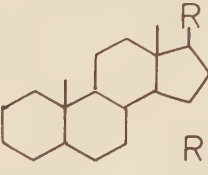
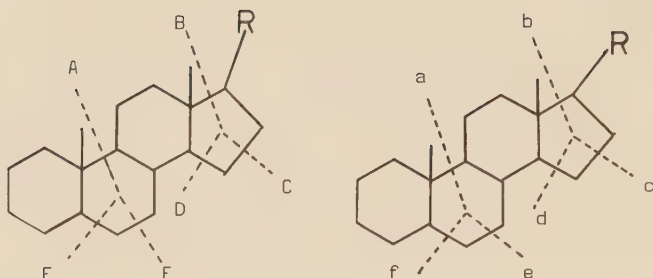
 $R = H$	96 + 164 (b), 110 + 150(e) 218 + 42 (e), 232 + 28 (f) 204 + 56 (a), 110 + 150 (d)
 $R = C_8H_{17}$	56 + 316 (a), 96 + 276 (b) 110 + 262 (c), 150 + 222 (d), 154 + 218 (e), 140 + 232 (f)

Tabelle 20: Geradzahlige Bruchstücke (Spaltungstyp)



Die in den Spektren der beiden Substanzen auftretenden Bruchstücke ungerader Massenzahl (Radikalkationen) stammen entweder aus geradzahligen Fragmenten durch Abspaltung von angulären Methylgruppen, oder durch Abspalten der Seitenrestes R, oder sind das Ergebnis von Umlagerungen. Tatsächlich weist SPITELLER (1966) darauf hin, daß die meisten Abbaureaktionen der Steroide insbesondere derjenigen Vertreter mit ein oder mehreren funktionellen Gruppen im Zuge mehrfacher Umlagerungen verlaufen, was dann eine Aufdeckung der Spaltungsmechanismen äußerst schwierig mache. Auf die Wiedergabe von Konstitutionsformeln der im MS auftretenden Fragmente wurde daher grundsätzlich verzichtet.

In Praxis liegt der Fall vereinfacht sehr häufig so, daß eine Verbindung bekannter Konstitution mit einer unbekannten Variante zu vergleichen ist. Man geht von

der Annahme aus, daß auch zwei funktionelle Gruppen nicht grundsätzlich das Aussehen des MS ändern, daß m.a.W. die Fragmentierungen von bekannten und unbekannten Substanzen annähernd gleichartig verlaufen. Aus dem Auftreten von einerseits Fragmenten gleicher Massenzahl in beiden Spektren, aus dem Auftreten von Fragmenten konstanter Massendifferenzen andererseits lassen sich Rückschlüsse auf die Stellung der die Massendifferenz verursachenden funktionellen Gruppe im unbekannten Molekül ziehen. MCLAFFERTY (1973) beschreibt diese Technik als "Shift-Technik". Was damit gemeint ist, sei an einem Beispiel von K.NAKANISHI (1971) erläutert (siehe Abb. 33). Die beiden Formen unterscheiden sich durch Vorkommen bzw. Fehlen einer acetylierbaren OH-Gruppe. Die Abbildung 33 zeigt, daß in den beiden Verbindungen die aus den Seitenketten stammenden Fragmente identisch sind; daraus ergibt sich klar, daß die fragliche Hydroxygruppe im Steroidteil unterzubringen ist. In unserem Falle der Lyciumsubstanzen A und B konnte diese Methode der sogenannten "Shift-Technik" nach MCLAFFERTY darüber hinaus zur Festlegung der Stellung des fraglichen Substituenten herangezogen werden (siehe Seite 43).

Nachstehend ist die Fragmentierung eines Withanolids, und zwar des Dihydroxydesoxy-Jaborosalakton-A in der NAKANISHI-Darstellung wiedergegeben (siehe Abb. 33).

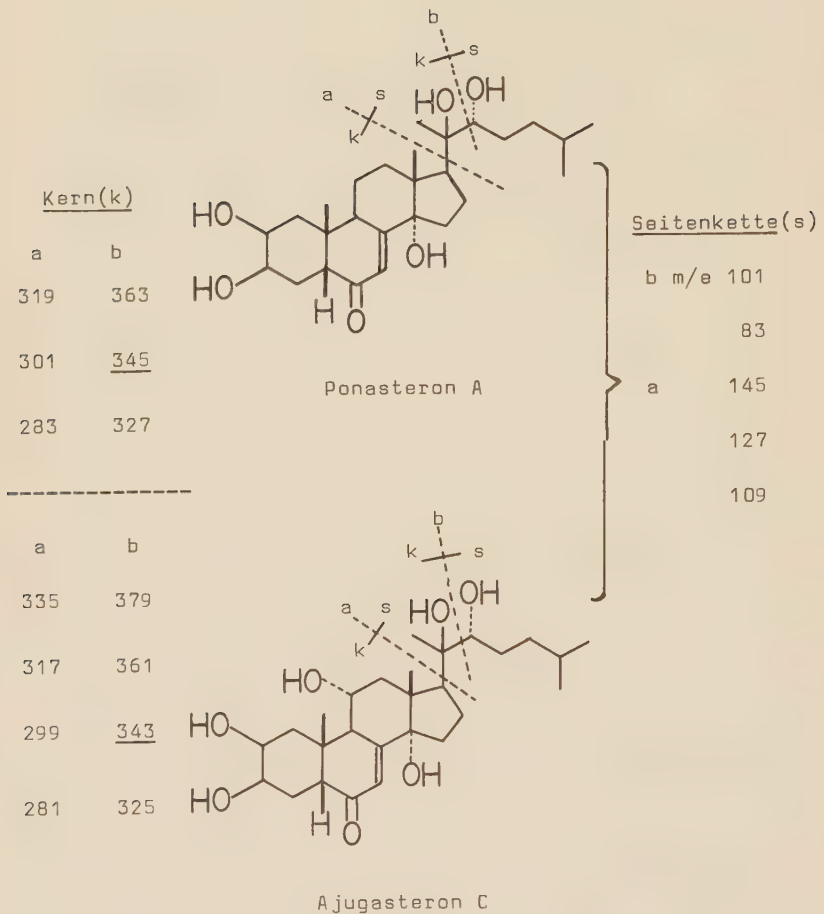


Abbildung 33: Vergleich der Fragmentierung von Ponasteron A und Ajugasteron C. Entnommen: aus K. NAKANISHI, 1971, verändert.

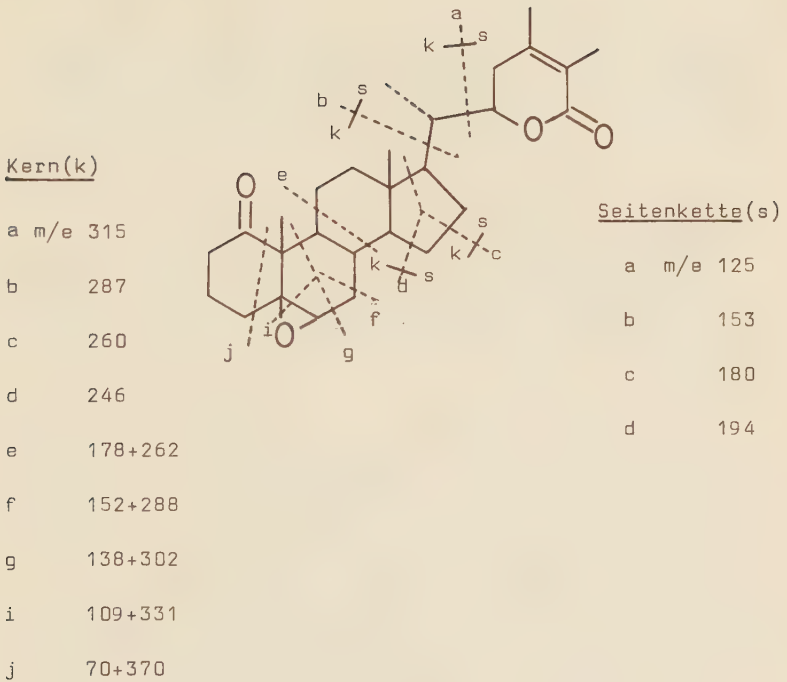


Abbildung 34: Fragmentierungen des Dihydrodesoxy-Jaborosalakton A nach NAKANISHI-Darstellung.

3.3. Pharmakologische Eigenschaft

Verschiedene Withanolide insbesondere Withaferin A wurden experimentell-pharmakologisch untersucht. Starke Hemmwirkung auf verschiedene Mäusetumoren wurde durch die Arbeiten von KUPCHAN et al. (1965) und SHOHAT (1970) bekannt. Nach SHOHAT et al. (1970 und 1973) genügte eine einmalige Dosis von 25-30 mg/kg, um über 50% der Mäuse vom Ehrlich-Ascites-Tumor zu heilen. Diese Tiere zeigten bei erneuten Übertragungsversuchen Resistenz gegen das Tumorgewebe.

Withaferin A gehört zu den Mitosegiften, und zwar hemmt es die Zellteilung in der Metaphase. Es wirkt synergistisch mit Colchicin und N-Deacetyl-N-methylthio-colchicin. A. FÜGNER (1973) prüfte die Hemmwirkung auf immunologische Entzündung. Es wurde Prednisolon vergleichbare Wirkung gefunden. Über die Lycium-Withanolide liegen bisher entsprechende Untersuchungen nicht vor. Ebenso wenig liegen Untersuchungen darüber vor, welche die Verwendung von Withanolide führenden Arzneipflanzen in der Volksmedizin erklärlich machen könnten. Immerhin ist bemerkenswert, daß in Indien die Wurzel von *Withania somnifera* zur Behandlung von hartnäckigen Geschwüren und rheumatischen Schwellungen verwendet wird. Auf eine ähnliche Verwendung von Lycium in der alten chinensischen Medizin wurde bereits in Abschnitt 1.3.1. hingewiesen.

4. Zusammenfassung

Die getrockneten Blätter von *Lycium chinense* (Handelsware aus Taiwan stammend) wurden mit Toluol und im Anschluß daran mit Äthylacetat extrahiert.

Aus der Toluolfraction wurden durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Toluol/Äthylacetat steigender Polarität und nach Rechromatographie auf Dickschichtplatten zwei Substanzen in rein kristalliner Form isoliert, die Lyciumsubstanz A, $C_{28}H_{38}O_6$, Schmp. $285-290^{\circ}$, und Lyciumsubstanz B, $C_{28}H_{38}O_5$, Schmp. $260-265^{\circ}$, bezeichnet wurden. Lyciumsubstanz A erwies sich auf Grund der IR-, MS-, NMR- und UV-Spektren als identisch mit dem in der Literatur zuerst von S.S. SUBRAMANIA et al. (1971) beschriebenen Withanolid, dessen Konstitution und Konfiguration als die des 5,20 α (R)-Dihydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-(5 α)-witha-2,24-dienolids angegeben wurde. Die Identität wurde durch Mischschmelzpunkt und durch Vergleich der Spektren mit denen der authentischen Probe gesichert. Bei Lyciumsubstanz B handelt es sich um eine bisher unbekannte Variante der nämlichen Withanolidreihe: auf Grund der Spektren und der CD-Werte wurde die Konstitution als die des 5 α -Hydroxy-6 α ,7 α -epoxy-1-oxo-witha-2,24-dienolids ermittelt. Demnach handelt es sich bei der Lyciumsubstanz B um das 20-Desoxy-Derivat der Lyciumsubstanz A.

Es wurde eine dünnschichtchromatographische halb-quantitative Methode zur Bestimmung der Lyciumsubstanzen A und B in der Droge ausgearbeitet: Es wurde ein Gehalt von etwa 0,02% und 0,03% bezogen auf die lufttrockene Droge gefunden.

Die Äthylacetatfraktion der Droge wurde an Kieselgel mit Toluol/Chloroform/Aceton (40+25+35, für die Fraktionen ÄAc-1 bis ÄAc-10) und einer Mischung aus Toluol/Aceton (1:1, für die Fraktionen ÄAc-11 bis ÄAc-13) säulenchromatographisch aufgetrennt. Es konnten drei Substanzen in rein kristalliner Form isoliert werden. Die Spektren dieser Substanzen wurden aufgenommen.

- (1) aus ÄAc-4 hellgelbe Nadeln vom Schmp. 204-205⁰,
 $C_{10}H_8O_4$ (192,1);
- (2) aus ÄAc-5 farblose Nadeln vom Schmp. 208-210⁰,
 $C_8H_8O_4$ (168);
- (3) aus ÄAc-13 farblose Prismen vom Schmp. 183-185⁰,
 $C_4H_6O_4$ (118).

Es wurde bewiesen, daß es sich um Scopoletin (1), um Vanillinsäure (2) und um Bernsteinsäure (3) handelt. Alle drei Stoffe sind als Bestandteile mehrerer Pflanzenarten beschrieben: es handelt sich demnach um die Beschreibung eines Neuvorkommens in Lycium chinense.

Die Ergebnisse der Arbeit, insbesondere hinsichtlich des Vorkommens der Steroid-Laktone vom Typus der Withanolide wurden im Hinblick auf die ausgiebige volksmedizinische Verwendung von Lycium in weiten Teilen Chinas, Japans und Taiwans diskutiert (siehe Abschnitte 3.1.1. und 3.1.3.).

5. Literaturverzeichnis

- (1) L.J.BELLAMY, The Infra-red Spectra of Complex Molecules, London Methuen Co. LTD, 1966
- (2) J.BOUQUET, zitiert aus R.WEITZ, Les Lycium européens et exotiques, 1921, S.61
- (3) R.S.CAHN, C.K.INGOLD und V.PRELOG, Angew. Chemie 78, 413, 1966
- (4) J.DELPHAUT, J.BALANSARD, 1) Ann. pharm. franç 7, 647, 1949; 2) 8, 725, 1950
- (5) C.DJERASSI, optical rotatory dispersion, Mc-Crar-Niell, New York, S. 115, 1960
- (6) C.DJERASSI, The chemistry of natural products, I.U.P.A.C., 6, 205, 1969
- (7) N.S.DHALLA et al., J. Pharm. Sci., 50, 876, 1961
- (8) A.ENGLE, Syllabus der Pflanzenfamilien, Band II, Berlin, 1964
- (9) ENGLER-PRANTL, Natürliche Pflanzenfamilien, Band IV, 3b, Leipzig, 1895, S. 25
- (10) U.EISNER, A.J.ELVIDGE und R.P.LINSTEAD, J. Chem. Soc. (London), 1953, 1372
- (11) K.J.EISENTRAUT und R.Z.SIEVERS, J. Amer. Chem. 87, 5254, 1965
- (12) A.FÜGNER, Arzneim.-Fortsch., 23, 932, 1973
- (13) A.R.FURGIUELE et al., J. Pharm. Sciences 51, 1156, 1962
- (14) T.FURUYA, "Arbeiten aus dem Pharmazeutischen Institut der Uni. Berlin IX, 117, 1912

- (15) E.GLOTTER, M.WEISSENBERG and D.LAVIE, Tetrahedron, 26, 3857, 1970
- (16) E.GLOTTER, I.KIRSON, A.ABRAHAM and D.LAVIE, Tetrahedron, 29, 1353, 1973
- (17) T.W.GOODWIN, zitiert aus K.HARASHIMA and Y.YAJIMA, Argr. Biol. Chem., 33, 1092, 1969
- (18) R.T.GUNTHER, The Greek Herbal of Dioscorides, Hafner Publishing Co., New York, 1959, 1, 119
- (19) R.HÄNSEL, H.RIMPLER und L.LANGHAMMER, Zeitschrift für analytische Chemie, 218(5), 346, 1966
- (20) K.HARASHIMA and Y.YAJIMA, Argr. Biol. Chem. 33(7), 1092-4, 1969
- (21) G.HEGI, Illustrierte Flora von Mittel-Europa, Lehmanns Verlag München, Band V 4, 1958
- (22) R.HEGNAUER, Chemotaxonomie der Pflanzen VI, Birkhäuser Verlag, 1973
- (23) S.IMAI, T.MURATA et al., Yakugaku Zashi, 83, 1092, 1963
- (24) J.M.JACKMANN, im L. ZEICHMEISTER "Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe", 23, 337, 1965
- (25) H.KAISER, zitiert aus G.EHRHART und H.RUSCHIG "Arzneimittel" 3, 414, 1972
- (26) I.KIRSON, E.GLOTTER, A.ABRAHAM and D.LAVIE, Tetrahedron, 26, 2209, 1970
- (17) I.KIRSON, E.GLOTTER and D.LAVIE, J. Chem. Soc.(C), 2032, 1971
- (28) W.KLYNE, im R.BONNETT and J.G.DAVIS "Some Newer Physical Methods in Structural Chemistry", 1967

- (29) WEN-YAH KOO, Medical Plants of Taiwan, A-13, 1972
- (30) F.KORTE, K.H.BÜCHEL und K.L.GÖHRING, Angew. Chem. 71, 523, 1959
- (31) M.KRAFT, Struktur und Absorptionsspektroskopie der Steroide und Alkaloide, Georg Thiem Verlag, 1975
- (32) S.M.KUPCHAN et al., J. Amer. Chem. Soc., 87, 5805, 1965
- (33) S.M.KUPCHAN et al., J. Org. Chem., 34, 3858, 1969
- (34) S.KUROKAWA, Shikoku Igaku Zasshi, 18, 127, 1962
- (35) J.L. De LANEISSAN, zitiert aus R.WEITZ, les Lycium européens et exotiques, 1921
- (36) D.LAVIE, Y.SHVO, Y.GOTTLIEB and E.GLOTTER, J. Org. Chem., 27, 4546, 1962
- (37) D.LAVIE, E.GLOTTER and Y.SHVO (Part III), J. Org. Chem., 30, 1774, 1965
- (38) D.LAVIE, E.GLOTTER and Y.SHVO (Part IV), J. Chem. Soc., 7517, 1965
- (39) D.LAVIE, S.GREENFIELD, Y.KASHMAN and E.GLOTTER, Israel Journal of Chemistry, 5, 151, 1967
- (40) D.LAVIE, I.KIRSON and E.GLOTTER, Israel Journal of Chemistry, 6, 671, 1968
- (41) H.LECLERC, Précis de Phytothérapie Masson et C^{ie}, Paris (1954), S. 308
- (42) PIN-KING LI et al., Comp. rend. soc. biol. 123, 1155, 1936
- (43) J.J.LUKES and J.NEMEC, Coll. Chem. Comm., 27, 735, 1962, zitiert aus R.BONNETT "Some newer physical methods in structural chemistry", United Trade Press, London, 1967

- (44) L.MANFRED, Siete Mil Recetas Botanicas a Base de Mil Trescientas Plantas Medicinales, 151, 1958, Editorial Kier, Buenos Aires
- (45) H.G.MENSSEN und G.STAPEL, Planta Medica, 24, 8, 1973
- (46) F.W.MCLAFFERTY, Interpretation of Mass Spectra, W.A.Benjamin Inc., London, 1973, S.194
- (47) A.T.MCPHAIL and G.A.SIM, J.Chem. Soc.(B), 962, 1968
- (48) W.MERZ und H.STOLTE, Planta Medica, 2, 121, 1960
- (49) K.MIZOBUCHI et al., Syoyakugaku Zashi, 17(1-2), 14-15, 1963
- (50) K.MIZOBUCHI et al., Tokushima Daigaku Yakugakubu Kenkyu Nempo, 14, 10-13, 1965
- (51) K.MIZOBUCHI et al., Tokushima Daigaku Yakugaku Kenkyu Nempo, 18, 27-30, 1969
- (52) W.MOFFIT et al., J. Amer. Chem. Soc., 83, 4017, 1961
- (53) K.M.NADKARNIS, Indian Materia Medica, Popular Book Depot Bombay 7, p. 756, 1954
- (54) K.NAKANISHI, im I.U.P.A.C. "Chemistry of Natural Products" Band 7, S.167, 1971
- (55) W.NEUDERT und H.RÜPKE, Steroid-Spektrenatlas, Springer-Verlag Berlin 1965
- (56) R.NISHIYAMA, Nippon Shikuhin Kogyo Gakkaishi, 9(6), 248, 1962
- (57) M.V.PAETH und A.TRACEY, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse Band IV, 602, zitiert aus MIZOBUCHI, K., et al., Syoyakugaku Zashi, 17(1-2), 14, 1963
- (58) W.RAUH, Unsere Ziersträucher, Carl Winter, Heidelberg S. 97, 1955

- (59) E.SCHMIDT und W.SCHÜLTE, Jahresberichte der Pharmazie 166(1890); zitiert aus (48)
- (60) L.I.SCOTT, "Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products", Pergamon Press, S. 142, 1964
- (61) B.SHOHAT, S.GITTER, A.ABRAHAM and D.LAVIE, Cancer Chemother. Rep., 51, 271, 1967
- (62) B.SHOHAT, S.GITTER and D.LAVIE, 1) Int. J. Cancer, 5, 244, 1970; 2) Z. Krebsforschung Klin. Onkol. 80(2), 97, 1973
- (63) J.N.SHOOLEY and M.T.ROGERS, "Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Steroids", J. Amer. Chem. Soc., 80, 5121, 1958
- (64) G.SNATZKE, 1) Angew. Chem., 80, 15, 1968; 2) in R.BONNETT "Some newer physical methods in structural chemistry", London, 1967
- (65) G.SNATZKE und R.HÄNSEL, Tetrahedron Letters, 15, 1797, 1968
- (66) G.SPITELLER, Massenspektrometrische Strukturanalyse organischer Verbindungen, Verlag Chemie, GmbH, Weinheim/Bergstr., 1966
- (67) E.STAHL, 1) Dünnschichtchromatographie, 1967; 2) J. Chromatogra., 33, 273, 1968
- (68) S.S.SUBRAMANIA and P.D.SETHI, and E.GLOTTER, I.KIRSON and D.LAVIE, Phytochemistry, 10, 685, 1971
- (69) M.SUZUKI, S.OSAWA and M.HIRA, Tohoku J. Exp. Med. 106(3), 219, 1972
- (70) M.SUZUKI, T.TAKAHASHI and T.ABE, The Tohoku J. Exp. Med. 108(2), 123, 1972

- (71) de THIERSANT, SOUBERIRAN et, zitiert aus R.WEITZ,
Les Lycium européens et exotiques, 1921
- (72) R.TSCHESCHE, H.SCHWANG und G.LEGLER, Tetrahedron,
22, 1121, 1966
- (73) R.TSCHESCHE, M.BAUMGARTH und P.WELZEL, Tetrahedron,
24, 5169, 1968
- (74) R.TSCHESCHE, K.ANNEN und P.WELZEL, Tetrahedron,
28, 1909, 1972
- (75) J.C.Th.UPHOF, Dictionary of Economic Plants,
J. Cramer 1968, New York
- (76) V.I.VELIKANOVA and T.P.BEREZOSKAYA, Chemistry of
Natural Compounds, 8(5), 610, 1972
- (77) J.M.WATT and M.C.BREYER-BRANDWIJK, The Medical and
Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa,
E.u.S. Livingstone London, 1962, S. 961
- (78) R.WEITZ, Les Lycium européens et exotiques, Paris,
Vigot Prères, 1921
- (79) R.WETTSTEIN, Handbuch der Systematischen Botanik,
Leipzig und Wien Franz Deuticke, 891, 1935
- (80) Y.YOSHIMURA, T.TAKE and H.OTSUKA, Kaseigaku Zashi,
20(7), 481, 1969
- (81) R.F.ZÜRCHER, Helv. Chem. Acta 1) 44, 1380, 1961;
2) 23, 2054, 1963

Die vorliegende Arbeit wurde unter
Anleitung von Herrn Professor Dr. R.Hänsel
am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie
der Freien Universität Berlin in der Zeit
von April 1972 bis September 1975
durchgeführt.

Meinem sehr verehrten Lehrer,
Herrn Professor Dr. R. Hänsel, möchte ich
an dieser Stelle für die vielen wertvollen
Anregungen, für seine wohlwollende Förderung,
für die zahlreichen wertvollen Ratschläge
sowie für das große Interesse danken, das er
meiner Arbeit entgegenbrachte.

Mein herzlicher Dank gilt auch allen Mitarbeitern
am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie,
vor allem Herrn W. Bähr für das Fotografieren
der Formeln und Spektren.

Lebenslauf

Am 2. Januar 1939 wurde ich, Jai-Tung Huang, als erster Sohn des Kaufmanns Kim-Tu Huang und seiner Ehefrau Fu Huang geb. Wu, in Nantou, Taiwan (Formosa) geboren.

Vom September 1945 bis 1951 ging ich in die dortige Volksschule und besuchte dann von 1951 bis 1958 das Gymnasium Taichung in Taichung. Von 1958 bis 1963 studierte ich in der vorgeschriebenen Mindestzeit von 10 Semestern am "China medical college" in Taichung Pharmazie und schloß das Studium mit dem Staatsexamen ab.

Nach Ableistung meines einjährigen Militärdienstes als Leutnant-Apotheker war ich von 1964 bis 1966 in meiner Heimat Nantou als Lehrer für Physik und Chemie am Gymnasium Nantou und anschließend von 1966 bis 1967 als Apotheker in einer Krankenhausapotheke in Taichung tätig.

Am 27. September 1967 kam ich nach Deutschland. Nachdem ich jeweils für ein Semester den Sprachkursus in Deutsch an den Universitäten Göttingen und Würzburg besucht hatte, war ich seit dem Wintersemester 1968/69 an der Universität Würzburg für das Fach Pharmazie immatrikuliert. Im April 1972 kam ich nach Berlin und arbeitete unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. R. Hänsel an der vorliegenden Dissertation im Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin.

Seit Mai 1972 bin ich mit der Dipl. Krankenschwester Huey-Hwa Huang geb. Chen verheiratet. Unserer Ehe entstammt ein Sohn.

